Travailler avec des appareils de laboratoire – un manuel.

BRAND

Informationes
sur la mesure de volumes

FIRST CLASS · BRAND

Préface

La mesure de volumes est d'une importance primordiale au laboratoire. L'utilisateur doit clarifier l'exactitude nécessaire pour la réalisation d'une mesure concrète. A partir de cette évaluation, il peut choisir l'appareil qui convient à sa mesure de volume.
Des mesures exactes exigent des appareils de mesure exacts et la manipulation correcte. Pour une meilleure compréhension des appareils de volumétrie utilisés dans le laboratoire et leur maniement, une explication des termes les plus importants de classification et d'utilisation est donnée dans la suite, à l'exemple des appareils de laboratoire BRAND.
La brochure «Informations sur la mesure de volumes» a pour but de mettre à disposition du lecteur une vision générale des appareils de volumétrie. Elle ne substitue en aucun cas le mode d'emploi des appareils décrits. De toute façon, il est indispensable que vous lisiez le mode d'emploi fourni avec l'appareil avant mise en service – ceci pour votre propre sécurité et succès.

Si vous désirez d'obtenir des informations complêmentaires, n'hésitez pas à nous contacter.

Comment contacter BRAND

Vous pouvez nous joindre par téléphone, télécopie, e-mail ou Internet.

Téléphone: +49 9342 808-0

Télécopieur: +49 9342 808-236

E-Mail: info@brand.de

Internet: www.brand.de

Table des matières

Vision générale des appareil de volumétrie 5

I. Fabrication d'appareils de volumétrie en verre 6

1.1 De la matière première à l'appareil de volumétrie de précision 6
1.2 L'appareil de volumétrie avec ses inscriptions 8
1.3 Appareils de volumétrie et leur classification en classes d'exactitude 9

II. Mesure de volume 10

2.1 Mesure du volume exact – ajustage du ménisque 10
2.2 Temps d'écoulement et d'attente 11

III. Travailler avec des appareils volumétrie en verre 12

3.1 Pipettes en général 12
3.2 Pipettes fréquemment utilisées 13
3.3 Maniement des pipettes 14
3.4 Maniement des fioles jaugées 15
3.5 Maniement des éprouvettes bouchées et graduées 15
3.6 Maniement des burettes 16
3.7 Maniement des pycnomètres 17
3.8 Travailler avec des auxiliaires de pipetage 18

IV. Travailler avec des appareils Liquid Handling 21

4.1 Doser avec des distributeurs adaptables sur flacon 22
4.2 Titrer avec des burettes adaptables sur flacon 24
4.3 Pipetter avec des pipettes à coussin d'air 25
4.4 Pipetter avec des pipettes à déplacement positif 27
4.5 Doser avec des distributeurs manuels 28

V. Sur l'exactitude 30

VI. La surveillance des moyens de contrôle 31

6.1 Procédé du contrôle de volume 32
6.2 Logiciel de calibrage 34
6.3 Service de calibrage 34

VII. Les certificats et leur signification 35

VIII. La directive DIV 36

IX. Sur l'assurance de qualité 37

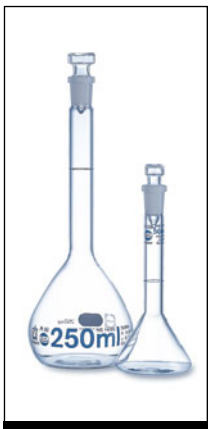
X. Le nettoyage des appareils de laboratoire 38

XI. Conseils concernant la sécurité 40

Vision générale des appareils de volumétrie

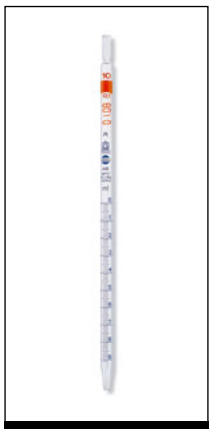
Appareils de volumétrie en verre

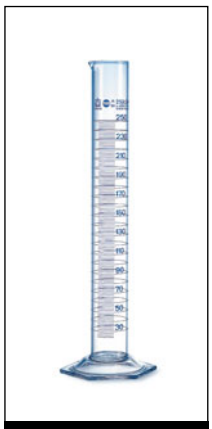
La mesure de volumes de liquides fait partie des travaux de routine de chaque laboratoire. Les appareils de volumétrie en verre, comme les fioles jaugées, les pipettes jaugées et graduées, les éprouvettes graduées et les burettes, sont donc des instruments de base. Grand nombre de fabricants offrent des appareils de volumétrie en différentes qualités. Ci-dessous une sélection d'appareils de volumétrie de qualité BRAND est presenté:



Fioles jaugées

Pipette jaugée


Pipette graduée


Eprouvette graduée

Burette

Appareils de Liquid Handling

Afin de répondre aux exigences de plus en plus sévères dans la mesure de volumes réalisée au laboratoire (examens en série, séries de tests), de nouveaux appareils ont été développés en permanence, par exemple pour le dosage, le pipetage et le titrage. Les appareils des différents fabricants, conçus pour la même application, sont presque tous similaires quant au principe de fonctionne-ment. Toutefois, il existe, en partie, de gran-des différences dans la qualité de finition, les détails de construction et le dessin des appa-reils des divers fabricants. La sélection d'appareils Liquid Handling de BRAND présente:

Distributeur adapt. sur flacon

Distributeur adapt. sur flacon

Burette adapt. sur flacon

Pipette à coussin d'air, à un canal

Pipette à coussin d'air, multicanaux

Pipette à déplacement positif

Distributeur manuel mécanique

Distributeur manuel électronique

I. Fabrication d'appareils de volumétrie en verre

1.1 De la matière première à l'appareil de volumétrie de précision

L'examen des ébauches

Afin de pouvoir fabriquer des appareils de volumétrie en verre de haute qualité exigée par les laboratoires, les ébauches sont soumises à un contrôle sévère, suivi d'un traitement thermique: on élimine les contraintes dans le verre par un chauffage et refroidissement contrôlés des ébauches, condition essentielle pour assurer la meilleure résistance mécanique possible, garantissant ainsi que le volume demeure constant lors de contraintes thermiques ultérieures.

Les appareils de volumétrie BLAUBRAND® et SILBERBRAND peuvent donc subir une température allant jusqu'à 180 °C dans les étuves de séchage ou de stérilisation, sans risque que leur volume soit modifié.

Il faut toutefois faire attention au fait que le chauffage irrégulier des appareils en verre ou les chocs thermiques brusques provoquent des contraintes thermiques qui peuvent causer leur casse.

Donc:
Ne placer les appareils en verre dans les étuves de séchage ou de stérilisation que lorsque ces dernières sont à froid, puis les chauffer lentement.
Une fois le temps de séchage ou de stérilisation révolu,laisser les appareils se refroidir lentement dans l'étuve éteinte.
Ne jamais chauffer des appareils de volumétrie sur plaques chauffantes!

Ebauches de foiles jaugées

Le calibrage

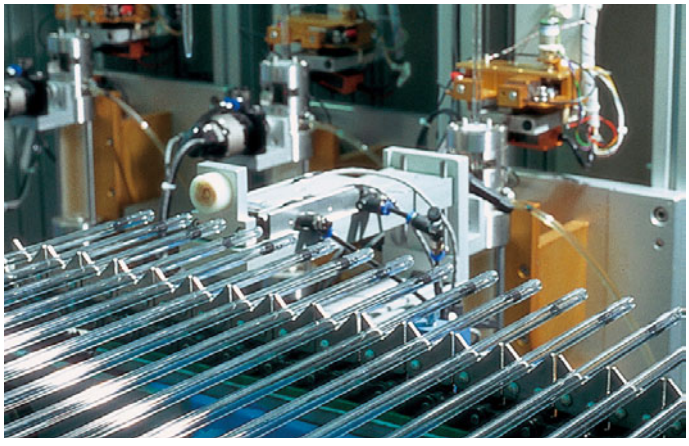
Pour le calibrage d'appareils de volumétrie en verre, des volumes partiels déterminés sont mesurés volumétriquement, c'est-à-dire qu'on verse une quantité déterminée et exacte d'eau dans l'appareil de volumétrie et on applique un trait de jauge sur l'appareil au niveau du point le plus bas du ménisque.
Pour les appareils de volumétrie avec graduation, normalement deux traits de jauge sont appliqués.
En principe, on différencie deux façon de calibrage: calibrage pour contenir "In" et calibrage pour écouler "Ex".
Le calibrage des appareils de volumétrie s'effectue par des systèmes informatisés de façon entièrement automatique avec la meilleure précision possible.

Calibrage pour contenir "In":

Dans le cas des appareils de volumétrie calibrés pour contenir "In", la quantité de liquide contenue correspond exactement au volume imprimé sur l'appareil. La quantité de liquide écoulée, par contre, est diminuée de la quantité de liquide qui reste sur la paroi en raison du mouillage. Font partie de ces appareils de volumétrie par ex. les éprouvettes graduées, les fioles jaugées et les pipettes capillaires allant jusqu'à 200 µl.

Calibrage pour écouler "Ex":

Dans le cas des appareils de volumétrie calibrés pour écouler "Ex", la quantité de liquide écoulée correspond exactement au volume imprimé sur l'appareil. La quantité de liquide qui reste sur la paroi en raison du mouillage a déjà été considérée lors du calibrage. Font partie de ces appareils de volumétrie par ex. les pipettes graduées, les pipettes jaugées et les burettes.



Installation de calibrage pour pipettes graduées

La température de référence (température à laquelle l'appareil de volumétrie doit contenir ou faire écouler le volume nominal indiqué) est de 20 °C. La température à laquelle s'effectue le calibrage est donc d'une grande importance pour l'exactitude des appareils de mesure. Si le calibrage ne s'effectue pas exactement à la température de référence, le volume du liquide utilisé pour le calibrage (eau distillée) et, si nécessaire, le volume de l'appareil de mesure doivent être corrigés à 20 °C.

La réalisation des impressions

Après le calibrage, on procède à l'impression par sérigraphie. BRAND utilise des écrans de soie pour sérigraphie extensibles pour toutes les pipettes graduées, les burettes, les éprouvettes graduées et éprouvettes bouchées. En étendant les écrans de soie, ceux-ci correspondent exactement aux traits de jauge et c'est pourquoi même les volumes intermédiaires sont d'une précision extrême. En ce qui concerne les pipettes, on applique sur leur extrémité supérieure un anneau de couleur dénommé "code-couleur" pour une meilleure distinction des capacités des pipettes qui, sinon, seraient faciles à confondre. Il est défini dans la norme DIN 12 622 quelle couleur correspond à quel volume nominal.

Réalisation des impressions sur les fioles jaugées, à la machine

Les couleurs d'imprimerie

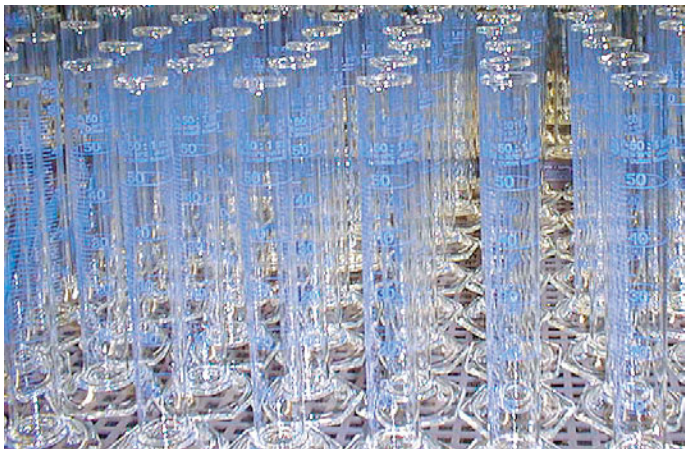
BRAND utilise des couleurs d'imprimerie de qualité fabriquées spécialement pour les appareils de volumétrie:

- couleur émaillée bleue
- couleur émaillée blanche
- couleur à diffusion brune

Pour les appareils de volumétrie BLAUBRAND® (classe A/AS) on utilise la couleur émaillée bleue qui est particulièrement appropriée grâce à son bon contraste de couleur même avec des solutions colorées. Cette couleur combine résistance et lisibilité de façon optimale.
De façon analogue à la classe A/AS, les appareils de volumétrie de la classe B de la série SILBERBRAND sont fournis avec des inscriptions de couleur émaillée blanche, ceux de la série SILBERBRAND ETERNA de couleur à diffusion brune.

La cuisson

La cuisson des inscriptions est la dernière phase du processus à suivre de l'ébauche à l'appareil de volumétrie fini.



Eprouvettes graduées avec impressions réalisées, avant cuisson

Le procédé de cuisson soigneusement contrôlé est une condition essentielle – en plus du choix des couleurs d'imprimerie de qualité, spécialement fabriquées à cet effet – pour une graduation résistante sur les appareils de volumétrie. Cela signifie: chauffage et refroidissement contrôlés des appareils de volumétrie gradués.
La température maximale est entre 400 °C et 550 °C, selon le type de verre.

1.2 L'appareil de volumétrie avec ses inscriptions

Pour la détermination exacte de volumes en laboratoire, il est conseillé de n'utiliser que des appareils de volumétrie de haute qualité, fabriqués à partir d'un verre chimiquement résistant conformément aux normes DIN. Il est absolument nécessaire de respecter les conditions de calibrage. Les inscriptions et la graduation doivent être facilement lisibles et résistantes.

Conformément aux prescriptions de l'institut allemand de normalisation DIN, les indications suivantes doivent figurer sur les appareils de volumétrie:

- fabricant
- volume nominal
- symbole de l'unité
- calibrage
- classe
- température de référence

En outre, les indications suivantes peuvent figurer sur l'appareil:

- pays d'origine
- tolérance (marge d'erreur maximum)
- marque (dans notre cas: BLAUBRAND®)
- sigle d'une association, par ex. DIN
- numéro de lot

Inscriptions sur une pipette jaugée BLAUBRAND®

Fabricant

Marque de BRAND pour les appareils de volumétrie de qualité supérieure

Volume nominal

Tolérance (marge d'erreur maximum)

H^{B}, le signe pour l'attestation de conformité BRAND, suivant les régulations allemandes sur l'étalonnage des poids et mesures et la norme DIN 12 600

Sigle DIN de l'institut allemand

Température de calibrage (20 °C), calibrage (Ex = écoulement), temps d'attente (15 sec)

Classe "A" signifie la classe de qualité la plus élevée. "S" signifie écoulement rapide

Pays d'origine

1.3 Appareils de volumétrie et leur classification en classes d'exactitude

En général, les appareils de volumétrie sont divisés en deux classes d'exactitude:

Classe A/AS

La classe A/AS est la classe d'exactitude la plus élevée. Elle est obtenue en particulier par des appareils de volumétrie en verre. Une exception sont les éprouvettes graduées en matière plastique BRAND, fabriquées à partir de PMP et conçues pour des exigences les plus élevées, qui sont également conformes à la classe A.
La tolérance ou bien l'exactitude et le coefficient de variation se situent dans les marges définies par les normes DIN et ISO. La classe A et la classe AS ont les mêmes tolérances d'erreur, mais se distinguent par leurs temps d'écoulement et d'attente. L'indication additionnelle "S" signifie écoulement rapide.
En vue des exigences dues au nettoyage effectué généralement en machine, les pipettes et burettes sont fabriquées de nos jours presque exclusivement en classe AS. Elles sont pour vues d'un orifice de pointe plus grand que les appareils de la classe A, ce qui rend le nettoyage plus facile.
Les types de verre utilisés sont par ex. verre de chimie (comme par ex. AR-Glas®) pour la fabrication de pipettes jaugées et graduées ou bien verre borosilicaté (comme par ex. DURAN®) pour la fabrication de fioles jaugées, éprouvettes graduées et burettes. Ces types de verre sont adaptés aux exigences élevées du laboratoire en ce qui concerne la résistance chimique et physique.

Classe A/AS

- désigne toujours la classe d'exactitude la plus élevée
- 'S' signifie écoulement rapide (pipettes et burettes)
- seule la classe A/AS est attestée conforme
- graduation: marques circulaires aux points principaux

La classe A/AS est reconnaissable, entre autres, aux marques circulaires aux points principaux.
Marques de BRAND pour les appareils de volumétrie de la classe A/AS:

- BLAUBRAND®
- BLAUBRAND®-ETERNA

Classe B

Les appareils de volumétrie de la classe B sont disponibles en verre ou en matière plastique. La tolérance ou bien l'exactitude et le coefficient de variation se situent dans le double des marges de tolérance de la classe A/AS, définies par les normes DIN et ISO. Les types de verre utilisés sont par ex. verre de chimie (comme par ex. AR-Glas®) pour la fabrication de pipettes jaugées et graduées ou bien verre borosilicaté (comme par ex. DURAN®) pour la fabrication de fioles jaugées, éprouvettes graduées et burettes. Ces types de verre sont adaptés aux exigences élevées du laboratoire en ce qui concerne la résistance chimique et physique.

Classe B

- en règle générale le double des marges de tolérance de la classe A/AS
- graduation à traits courts

La classe B est reconnaissable, entre autres, aux traits courts.
Marques de BRAND pour les appareils de volumétrie en verre de la classe B:

- SILBERBRAND
- SILBERBRAND-ETERNA

Verre ou matière plastique?
Le matériau universel, répondant à toutes les exigences du laboratoire, n'existe pas. Il faut se décider entre le verre et les matières plastiques selon l'application prévue et la forme du produit, en tenant compte des propriétés spécifiques du matière en question et des aspects économiques.

L'excellente résistance à la casse et la légèreté sont les avantages les plus décisifs des appareils de volumétrie en matière plastique. BRAND fournit les appareils de volumétrie en matière plastique avec graduations en relief ou imprimées bleues assurant un bon contraste.

Marque de BRAND pour les appareils de volumétrie en matière plastique:

- PLASTIBRAND®

II. Mesure de volumes

Les appareils de volumétrie sont exactement calibrés et servent à mesurer précisément des volumes définis.
(Les béchers, fioles Erlenmeyer, ampoules à décanter etc. ne font pas partie des appareils de volumétrie. Ces appareils ne sont pas exactement calibrés, la graduation ne sert que pour une orientation rapide.)

Le ménisque – comment est-il formé?

Le terme "ménisque" est utilisé pour décrire la courbure de la surface d'un liquide.
Le ménisque peut prendre une forme convexe ou concave résultant de la tension superficielle d'un liquide.
Si les molécules du liquide subissent une force d'attraction plus forte de la part de la paroi de verre (force d'adhésion) que de la part des autres molécules du liquide (force de cohésion), le ménisque prend une forme concave. C'est-à-dire, le liquide monte près des bords du récipient. C'est le cas, par exemple, des solutions aqueuses.

Si le diamètre d'une pipette est suffisamment petit, par ex. celui d'une pipette capillaire, la force d'adhésion suffit non seulement pour faire monter le liquide près des bords du récipient, mais en plus pour faire monter toute la surface du liquide (effet de capillarité).

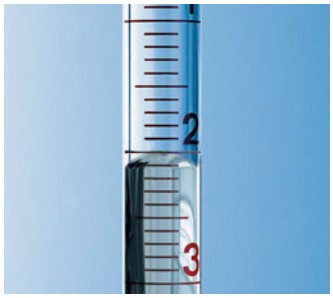
Si la force de cohésion entre les molécules d'un liquide est supérieure à la force d'adhésion entre les molécules du liquide et celles de la paroi de verre, le ménisque prend une forme convexe. C'est le cas, par exemple, du mercure.

2.1 Mesure du volume exact – ajustage du ménisque

Une condition essentielle pour la mesure exacte de volumes est l'ajustage exact du ménisque.

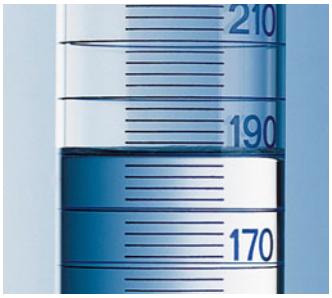
Ménisque concave dans une pipette graduée.

Dans le cas d'un ménisque concave, la lecture du volume se fait, selon la norme DIN, au point le plus bas de la surface du liquide. Ce faisant, le point le plus bas du ménisque doit toucher le bord supérieur du trait.



Ménisque convexe dans une pipette graduée.

Dans le cas d'un ménisque convexe, la lecture du volume se fait, selon la norme DIN, au point le plus haut de la surface du liquide. Ce faisant, le point le plus haut du ménisque doit toucher le bord inférieur du trait.



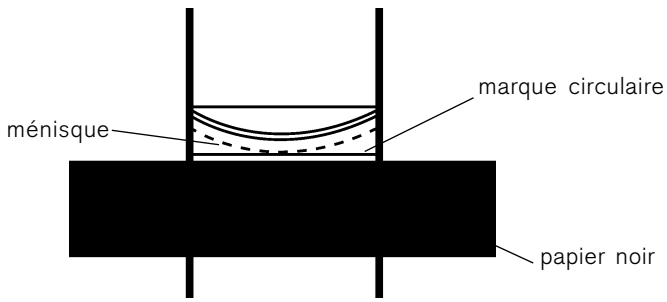
Ajustage du ménisque dans une éprouvette graduée.

Le point le plus bas du ménisque doit être au même niveau que le bord supérieur du trait (lecture sans parallaxe). Pour des mesures très exactes et une meilleure lisibilité, on peut utiliser une bande noire placée derrière l'appareil légèrement au-dessous du trait (voir fig.).

Ajustage du ménisque dans un appareil avec bande photophore, comme par ex. une burette.

La bande photophore est une étroite bande bleue au centre d'une bande blanche de verre opale. Les bandes photophores sont imprimées sur le dos d'appareils de volumétrie pour une meilleure lisibilité.
En raison de la réfraction de la lumière, la bande bleue apparaît sous la forme de deux pointes au niveau du ménisque. La lecture se fait au point de contact des deux pointes.

Ajustage du ménisque



2.2 Temps d'écoulement et d'attente

Temps d'écoulement et d'attente, se référant à la division en classes

Les appareils de volumétrie sont divisés dans les classes de qualité A/AS et B.
La classe définit les propriétés des produits, s'ils sont étalonnables, ainsi que l'exactitude et les temps d'écoulement et d'attente – et de cette manière leur manipulation correcte.
Les tolérances d'erreur et les temps d'écoulement varient en fonction du volume nominal.
Les temps d'attente sont définis d'avance sans possibilité de changement.

Le temps d'écoulement

Le temps d'écoulement est le temps dont le ménisque a besoin pour descendre du trait de jauge jusqu'à ce qu'il s'immobilise dans la pointe – ou bien au niveau du trait de jauge inférieur. Ensuite commence le temps d'attente.

Le temps d'attente

Le temps d'attente commence au moment où le ménisque s'immobilise dans la pointe - ou bien au niveau du trait de jauge inférieur. Pendant le temps d'attente, des restes de liquide s'écoulent de la paroi de verre; c'est pourquoi le ménisque monte à nouveau légèrement. Après le temps d'attente, le ménisque sera réajusté, si nécessaire, exactement au trait de jauge inférieur et la pointe de pipette sera essuyée contre la paroi du récipient**.** Pour une mesure exacte de volumes avec pipettes ou burettes, il est nécessaire de respecter le temps d'attente prescrit.

Cas particulier des pipettes à évacuation par soufflage

Dans le cas de pipettes à évacuation par soufflage, il n'existe pas de temps d'attente. Dès que le ménisque s'immobilise dans la pointe, on souffle une fois brièvement au lieu d'attendre.
Ces pipettes sont désignées par la dénomination "ausblasen" ("par soufflage") ou "blow-out" imprimée sur le corps de la pipette. Les pipettes à évacuation par soufflage ne sont pas attestées conformes. C'est pourquoi elles ne peuvent pas être utilisées dans le secteur régi par la loi.

Exemple de temps d'écoulement et d'attente se référant aux différentes classes de pipettes
(pipette jaugée de 25 ml)

Classe A (attestée conforme)

25 – 50 sec. de temps d'écoulement

Classe AS (attestée conforme)

10 – 15 sec. de temps d'écoulement + 15 sec. de temps d'attente

Classe B

10 - 20 sec. de temps d'écoulement

Pipettes à évacuation par soufflage

env. 10 sec. de temps d'écoulement

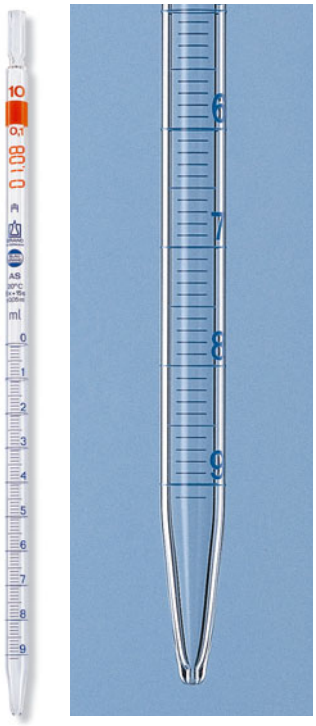
III. Travailler avec des appareils de volumétrie en verre

3.1 Pipettes en général

Les pipettes sont des appareils de volumétrie en règle générale calibrés pour écouler "Ex" permettant de mesurer des quantités de liquide. Elles sont mesurées volumétriquement lors du processus de fabrication et portent un ou plusieurs traits de jauge.
On distingue en règle générale les types de pipettes suivants: pipettes jaugées et pipettes graduées (calibrées pour écouler "Ex"), ainsi que pipettes capillaires allant jusqu'à 200 µl (calibrées pour contenir "In").

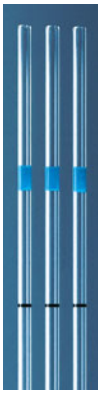
Pipettes jaugées

- calibrées pour écouler "Ex"
- un ou deux traits circulaires
- d'une meilleure exactitude de mesure que les pipettes graduées



Pipettes graduées

- calibrées pour écouler "Ex"
- graduation
- grâce à la graduation, possibilité de lire des volumes partiels



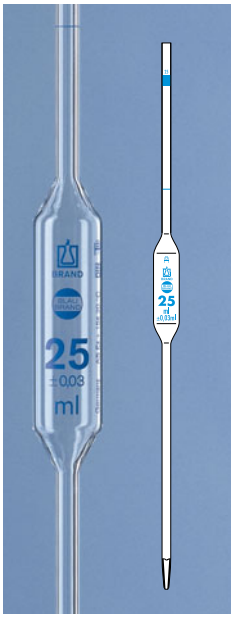
Pipettes capillaires par ex. intraMARK BLAUBRAND®

- calibrées pour contenir "In"
- un trait circulaire
- volume compris entre l'extrémité et le trait circulaire

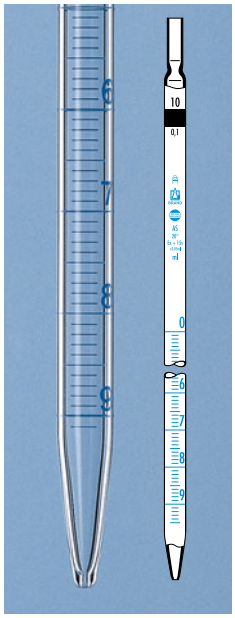
Pipettes capillaires "end-to-end" par ex. intraEND BLAUBRAND®

- calibrées pour contenir "In"
- sans trait
- volume compris entre les deux extrémités

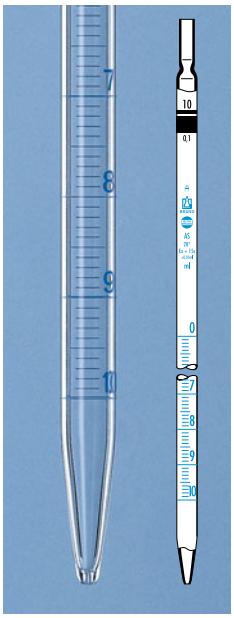
3.2 Pipettes fréquemment utilisées



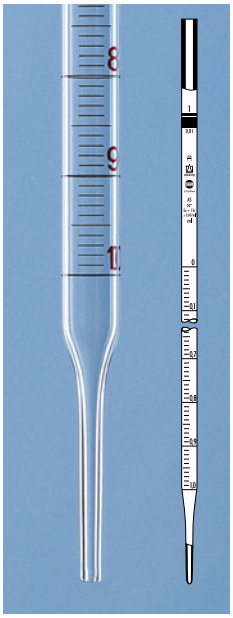
Pipette jaugée,
1 trait



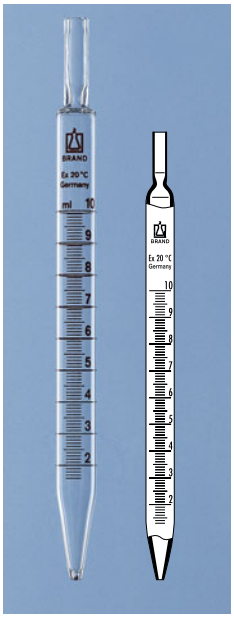
Pipette graduée,
écoulement total



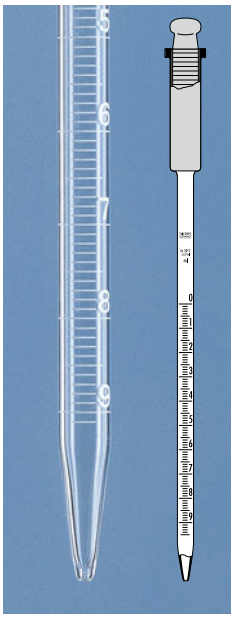
Pipette graduée,
écoulement partiel



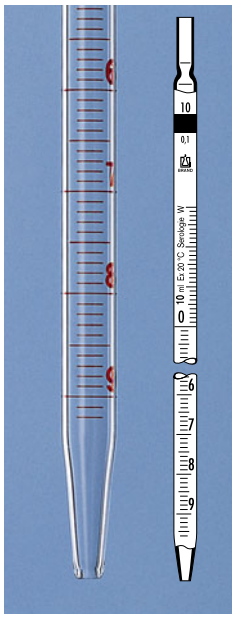
Pipette pour analyses
enzymatiques,
écoulement partiel



Pipette graduée -
culture de tissus,
modèle court



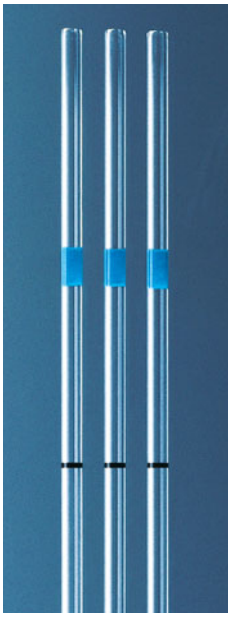
Pipette seringue



Pipette graduée -
sérologie,
grand orifice de la
pointe

Pipette de Sahli

Pipettes à dilution
de sang,
étalonnables



Pipettes capillaires à
usage unique
(vue partielle)

3.3 Maniement des pipettes

3.3.1 Pipettes calibrées pour écoulement "Ex"

Pipetage correct avec des pipettes jaugées et graduées
Accessoire auxiliaire: auxiliaire de pipetage

Remplissage de pipettes

- A l'aide d'un auxiliaire de pipetage, aspirer le liquide dans la pipette jusqu'à environ 5 mm au dessus du trait du volume nominal.
- Essuyer et sécher l'extérieur de la pointe de la pipette avec un tissu de cellulose.
- Tenir la pipette verticalement, le niveau du liquide étant à la hauteur des yeux. Appuyer la pointe de la pipette contre la paroi d'un récipient étant tenu incliné et, en laissant s'écouler lentement l'excédant, ajuster le ménisque au trait circulaire.

Evacuation de pipettes

- Tenir la pipette verticalement, appuyer la pointe de la pipette contre la paroi d'un récipient étant tenu incliné et laisser s'écouler le contenu.
- Dès que le ménisque s'immobilise dans la pointe, commence le temps d'attente (seulement pour classe AS).
- Après le temps d'attente, essuyer la pointe de la pipette en la remontant contre la paroi du récipient. Ceci permet l'écoulement partiel du liquide restant. La petite quantité de liquide qui reste dans la pointe ne doit pas être ajoutée par ex. par soufflage ou versée dans le récipient: cette quantité a déjà été prise en considération lors du calibrage de la pipette.

3.3.2 Pipettes calibrées pour contenir "In"
(par ex. pipettes capillaires jusqu'à 200 µl)

Pipetage correct avec des pipettes capillaires
Accessoire auxiliaire: auxiliaire de pipetage

Les pipettes capillaires sont des pipettes d'un très petit diamètre intérieur. L'aspiration du volume de liquide s'effectue avec un auxiliaire de pipetage ou automatiquement par capillarité. Après l'évacuation, la pipette capillaire doit être lavée et rincée plusieurs fois avec du diluant.

Remplissage

- Aspirer le volume de liquide le plus précisément possible jusqu'au trait souhaité (pour éviter des erreurs de volume).
- Tenir le capillaire horizontalement et l'essuyer doucement avec un tissu de cellulose.

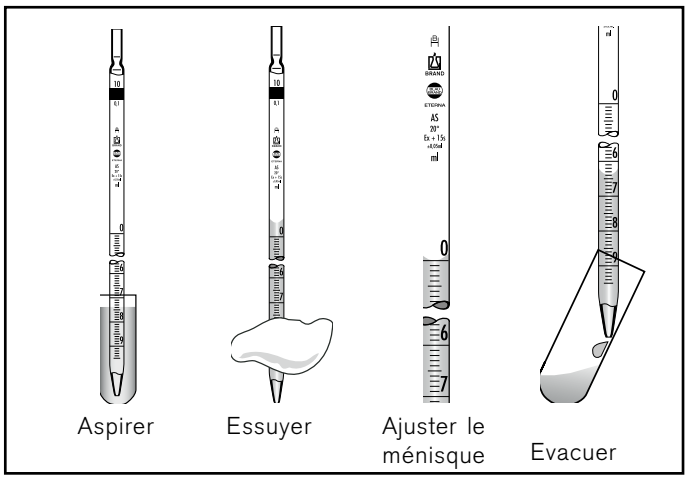
On distingue les types suivants de microcapillaires à usage unique: capillaires dont le volume est compris entre l'extrémité et le trait circulaire, comme par ex. les capillaires intraMARK, et capillaires dont le volume est compris entre les deux extrémités (end-to-end), comme par ex. les capillaires intraEND.

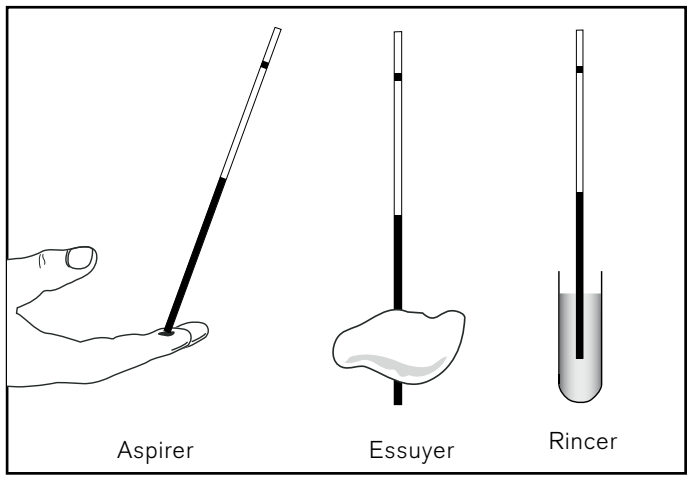
Evacuation

- Afin de vider le capillaire avec trait circulaire, évacuer le liquide par soufflage à l'aide d'un auxiliaire de pipetage et rincer 2 à 3 fois avec du diluant (le capillaire étant calibré pour contenir "In").
- Plonger la capillaire end-to-end (volume compris entre les deux extrémités) dans la solution de dilution pour lavage et réaliser l'extraction.

Remarque

Dans le cas de pipettes calibrées pour écoulement partiel, laisser le liquide s'écouler jusqu'à environ 10 mm au dessus du deuxième trait**.** Après le temps d'attente, ajuster le ménisque exactement au trait. Dans le cas de pipettes à évacuation par soufflage, le temps d'attente est substitué par le soufflage. Le temps d'écoulement ne doit jamais être réduit par soufflage. Dès que le ménisque s'immobilise dans la pointe de la pipette, souffler **une fois** brièvement avec l'auxiliaire de pipetage.





3.4 Maniement des fioles jaugées

Les fioles jaugées sont des appareils de volumétrie calibrés pour contenir "In", qui servent en particulier pour préparer des solutions exactes, comme par ex. solutions étalons et standards, et dissolutions.

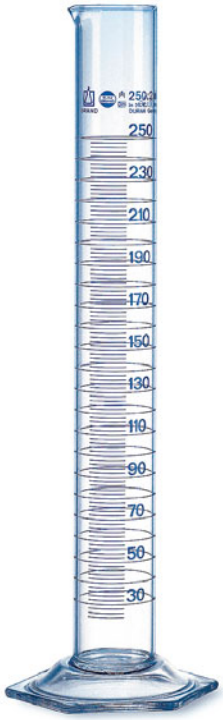
Les méthodes d'analyse modernes exigent des fioles jaugées de petits volumes.
Les fioles jaugées de forme standard, dans cette gamme de volumes (jusqu'à env. 50 ml) ont tendance à se renverser à cause de leur centre de gravité élevé et leur base réduite.
Les fioles jaugées de forme trapèze offrent une stabilité nettement améliorée. Leur centre de gravité se place plus bas et leur base est plus du double de celle d'une fiole standard à volume égal.

Utilisation d'une fiole jaugée pour la préparation d'une solution étalon:

- Placer dans la fiole jaugée la quantité de substance exactement pesée ou bien verser un concentré liquide standard.
- Remplir la fiole d'eau distillée jusqu'à la moitié environ et l'agiter afin de réaliser la dissolution ou bien le mélange.
- Ajouter de l'eau distillée presque jusqu'au trait de jauge.
- Ajuster la température de la fiole et du liquide à 20 °C (si nécessaire, placer la fiole avec son contenu dans un bainmarie pour la tempérer).
- A l'aide d'une pissette (ou pipette), apporter de l'eau distillée en quantité suffisante pour ajuster le ménisque exactement au trait de jauge. Important: la lecture doit être effectuée à la hauteur des yeux! En plus, la paroi de verre au-dessus du trait ne doit pas être mouillée.
- Ensuite, boucher la fiole et l'agiter en la retournant plusieurs fois pour réaliser le mélange.

3.5 Maniement des éprouvettes bouchées et graduées

Les éprouvettes graduées sont des appareils de volumétrie calibrés pour contenir "In", qui servent en particulier pour la mesure exacte de liquides.



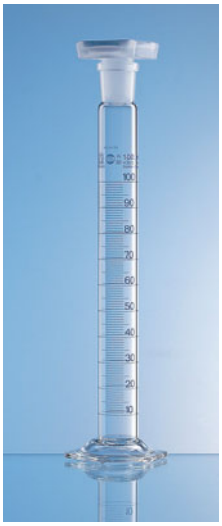
Maniement d'une éprouvette graduée:

- Verser un liquide dans l'éprouvette. Ajuster le ménisque au trait souhaité (effectuer la lecture à la hauteur des yeux).
- La paroi de verre au dessus du trait ne doit pas être mouillée.
- Le volume lu correspond à la quantité de liquide contenue.

Remarque
Si, par la suite, le liquide est répandu, par écoulement, dans un autre récipient, la quantité de liquide écoulée est diminuée de la quantité de liquide qui reste sur la paroi de verre en raison du mouillage.

Eprouvettes bouchées

L'éprouvette bouchée est une éprouvette graduée calibrée pour contenir "In" à col rodé et avec bouchon en matière plastique.



Les solutions peuvent être préparées directement dans l'éprouvette avec bouchon.

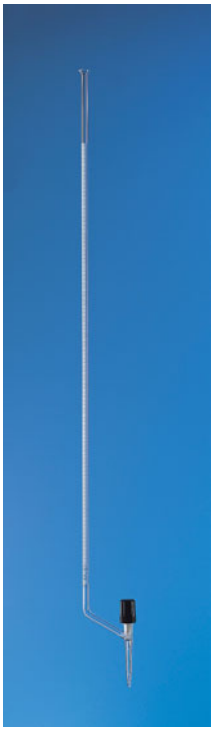
- Verser une quantité exactement mesurée de liquide dans l'éprouvette.
- Ajouter une quantité exactement pesée d'un solide et dissoudre en agitant.

Remarque
Le mélange de deux liquides peut entraîner une contraction de volume.

3.6 Maniement des burettes

Les burettes sont des appareils de volumétrie en verre calibrés pour écouler "Ex", qui servent pour le titrage appliqué à l'analyse étalon.

Différents modèles de burettes:



Burette avec robinet latéral

Burette à zéro automatique de Pellet

Burette à zéro automatique du Dr. Schilling

Maniement

- Fixer la burette verticalement dans le support. Adapter les burettes à zéro automatique de Pellet et celles du Dr. Schilling verticalement sur les flacons pour burettes. Rincer les burettes avec la solution étalon. Tenir en compte que seules des solutions étalons complètement homogènes peuvent être utilisées. Ni des turbidités ni des floculations ni des dépôts doivent être visibles.

- Remplir la burette jusque légèrement au-dessus du zéro, ensuite laisser le liquide s'écouler au maximum jusqu'au volume nominal pour désaérer le robinet de burette. S'il reste une petite bulle d'air dans la burette, pencher l'appareil et tapoter légèrement avec le doigt sur l'endroit où se trouve la bulle.

- Aspirer la solution étalon sans formation de bulles d'air jusqu'à environ 5 mm au-dessus du zéro. La paroi de verre au-dessus du zéro ne doit pas être mouillée.

- Ajuster exactement au zéro en laissant s'écouler du liquide. La lecture se fait à la hauteur des yeux (sans parallaxe). Dans le cas de burettes à zéro automatique: remplir également jusqu'à environ 5 mm au-dessus du point zéro. Celui-ci s'ajuste automatiquement après désaération.

- Essuyer la goutte éventuellement suspendue à la pointe de la burette.

- Ouvrir le robinet de burette et ajouter lentement la solution étalon à la solution contenant la substance à analyser (avec indicateur). Le robinet de burette ne doit pas toucher la paroi de verre. Agiter légèrement le récipient à pesée contenant la solution avec la substance à analyser en ajoutant goutte à goutte la solution étalon. Dès que le point de virage soit atteint et l'indicateur change de couleur, fermer le robinet de burette. Le titrage est terminé. Afin de faciliter la visualisation du virage de couleur, le récipient à pesée devrait être placé sur une base blanche.

- La lecture du volume de la solution titrée se fait à la hauteur des yeux. Etant donnée la durée du titrage, le temps d'attente (classe AS: 30 sec.) s'est déjà écoulé, en règle générale, pendant le processus de titrage.

- Essuyer la goutte éventuellement suspendue à la pointe de la burette du robinet contre la paroi intérieure du récipient à pesée pour l'ajouter (elle fait partie du volume de la solution titrée).

- Avant de procéder à un nouveau titrage, ajuster à nouveau le point zéro, le processus de titrage devant toujours commencer au point zéro.

Afin d'effectuer le titrage on a besoin à part de la burette, de fioles jaugées, de pipettes jaugées et de fioles Erlenmeyer.

3.7 Maniement des pycnomètres

Les pycnomètres servent en particulier pour déterminer la densité de liquides pas très visqueux. C'est pourquoi ils ne peuvent être considérés, au sens propre, comme faisant partie des appareils de volumétrie. Cependant, ils sont calibrés pour contenir "In", ce qui est également, entre autres, le cas des fioles jaugées.

On distingue deux types de pycnomètres:

Pycnomètre à bouchon

Pycnomètre avec thermomètre et capillaire latéral

Maniement

- Déterminer le poids à vide du pycnomètre sec.
- Remplir le pycnomètre de liquide sans formation de bulles d'air. Le col rodé doit être rempli jusqu'à un tiers environ.
- Ajuster la température du pycnomètre et du liquide dans un bain-marie à 20 °C.
- Aligner le bouchon ou bien le thermomètre du pycnomètre sur le corps conformément à la marque et l'introduire soigneusement. Ce faisant, le tube du capillaire se remplira et du liquide d'essai déplacé débordera.
- Essuyer et sécher soigneusement avec un tissu de cellulose la surface du bouchon ou bien celle du capillaire latéral, ainsi que l'extérieur du pycnomètre. ATTENTION: absolument éviter d'absorbe du liquide d'essai contenue dans le capillaire. Le niveau du liquide d'essai doit coïncider exactement avec le bord supérieur du capillaire.
- Déterminer le poids du pycnomètre rempli.

Remarque

Dans le cas de liquides d'une pression de vapeur élevée, il est recommandé d'utiliser le pycnomètre avec thermomètre et capillaire latéral avec bouchon.

La densité est calculée à partir de la masse (poids) et du volume du liquide. Le volume est gravé sur l'appareil. On applique l'équation suivante:

Densité (r) = masse (m) / volume (V)

Il faut prendre en considération la poussée aérostatique lors de la pesée.

Note
Chaque pycnomètre calibré porte un numéro d'appareil, lequel est également indiqué sur tous les composants. Seuls des composants portant le même numéro peuvent être utilisés ensemble.

3.8 Travailler avec des auxiliaires de pipetage

Comme déjà décrit dans le chapitre sur les pipettes, il faut utiliser un auxiliaire de pipetage en travaillant avec des pipettes. Selon l'alinéa 8 du règlement Allemand de Prévention des accidents (Caisse de Prévoyance allemande pour le Service de Santé et l'Assistance Publique) et l'alinéa 3 de la loi allemande GSG sur la sécurité des appareils, il est interdit de pipetter à la bouche. Ceci est valable aussi bien pour l'aspiration que pour l'évacuation du milieu.

On distingue deux types d'auxiliaires de pipetage:

- Auxiliaires de pipetage manuels
- Auxiliaires de pipetage à moteur

Auxiliaires de pipetage manuels

3.8.1 La poire pour pipetage

Auxiliaire de pipetage standard classique pour les pipettes jaugées et les pipettes graduées

Maniement

- Introduire la pipette
- Presser sur "A" et comprimer la poire (évacuation de l'air)
- Presser sur "S" et aspirer le liquide jusque légèrement au-dessus du trait souhaité
- En pressant sur "E", laisser le liquide s'écouler jusqu'au trait souhaité ou bien évacuer la pipette

Important!

Dans le cas de pipettes à évacuation par soufflage (blow-out), fermer l'orifice de la soupape latérale.

Attention!

Garder la poire pour pipetage dans son état original (non comprimée), ne pas laisser le liquide entrer dans la poire!

3.8.2 Auxiliaires de pipetage modernes – par ex. le macro de BRAND

Le macro est un auxiliaire de pipetage manuel. Grâce à son principe moderne de construction, il peut être considéré comme le successeur idéal de la poire de pipetage traditionnelle. Un système de soupapes sensible aux changement de pression fait de l'ajustage exact du ménisque un jeu d'enfant.

Le macro est l'auxiliaire approprié pour toutes les pipettes jaugées et les pipettes graduées de 0,1 à 100 ml. Une membrane filtrante protège le système contre les infiltrations de liquide.
L'appareil complet est autoclavable à 121 °C.

Maniement

Evacuation de l'air

Comprimer le soufflet d'aspiration.

Aspiration

Déplacer le levier de pipetage vers le haut.

Ajustage du ménisque / Evacuation

Déplacer le levier de pipetage vers le bas. Le ménisque descend - dès que vous relâchez le levier, le ménisque s'immobilise. Pour évacuer le liquide, déplacer le levier de pipetage complètement vers le bas.

Soufflage (fonction "blow-out")

Dans le cas de pipettes à évacuation par soufflage: après l'écoulement libre appuyer une fois brièvement sur le petit soufflet de caoutchouc.

Auxiliaires de pipetage à moteur

3.8.3 par ex. l'accu-jet® de BRAND

L'accu-jet® est un auxiliaire de pipetage à moteur, particulièrement approprié pour le pipetage de longues séries (par ex. dans la culture de cellules). Un système de soupapes sensible au changement de pression permet de travailler de façon continue avec les pipettes de 0,1 à 100 ml. La soupape antiretour incorporée offre, en combinaison avec la membrane filtrante, une protection efficace contre les infiltrations de liquides. L'unité pour le logement de pipette complète avec membrane filtrante est autoclavable à 121 °C. Afin de protéger l'appareil contre la corrosion, les vapeurs de liquide sont évacuées de l'appareil par compensation de pression active.

Deux modes de pipetage

L'accu-jet® dispose de deux modes de pipetage: "écoulement libre" sans support du moteur ou "évacuation par soufflage" avec support du moteur.

Le bon mode à tout moment

On fait le choix entre les deux modes de pipetage selon l'application. Au laboratoire analytique, par exemple, on travaille principalement dans le mode **"écoulement libre"** pour obtenir l'exactitude nécessaire des volumes à pipetter. Afin d'obtenir l'exactitude indiquée sur la pipette, l'écoulement libre du milieu est indispensable, tout en respectant les temps d'écoulement et d'attente.

Par contre, dans le domaine de la microbiologie, l'exactitude de volume est de moindre importance. Dans ce cas, c'est la mesure uniforme et rapide de solutions de cultures etc. qui est primordiale. C'est pourquoi on préfère dans ce domaine d'application travailler dans le mode **"évacuation par soufflage"**.

Maniement

Dès que le mode de pipetage désiré est choisi, deux boutons de fonction suffisent pour manier l'appareil:

- **Aspiration** (pour les deux modes opératoires)

  Appuyer sur le bouton de pipetage supérieur pour aspirer le liquide à pipetter. La vitesse d'aspiration augmente continuellement à mesure que l'on pousse le bouton dans l'appareils.

- **Evacuation**

  La vitesse d'évacuation augmente continuellement à mesure que l'on pousse le bouton dans l'appareil.

  Ecoulement libre: vitesse d'écoulement variable à réglage continu – idéal pour les travaux analytiques.

  Evacuation par soufflage avec support du moteur: vitesse d'évacuation par soufflage variable à réglage continu – idéal pour le pipetage dans la culture de cellules.

Auxiliaires de pipetage manuels pour pipettes de petits volumes jusqu'à 1 ml

3.8.4 par ex. le micro et le micro-classic de BRAND

Le micro et le micro-classic sont des auxiliaires de pipetage manuels particulièrement développés pour les pipettes de petits volumes.

micro

Le micro est fréquemment utilisé dans le domaine médical, particulièrement avec des pipettes capillaires, pipettes à dilution de sang, pipettes pour le sucre sanguin et autres pipettes jusqu'à 1 ml contribuant largement à réduire le risque d'infection.

Réduction du risque d'infection

Le micro est autoclavable en corps à 121 °C et possède une touche particulière pour éjecter les pipettes contaminées sans contact.

Maniement

Aspiration / Evacuation

En tournant la molette, le liquide est aspiré ou bien évacué.

Aération

Le bouton-poussoir sert pour l'aération afin que le liquide dans les pipettes calibrées pour écoulement "Ex" puisse s'écouler librement.

Ejection

La touche large sert pour éjecter (sans les toucher) les pipettes utilisées.

micro-classic

Grâce à sa forme ergonomique, le micro-classic est particulièrement approprié pour les travaux au microscope dans le laboratoire FIV et le laboratoire médical. L'adaptateur avec tuyau d'aspiration est autoclavable à 121 °C.

Maniement (toujours introduire le capillaire par l'extrémité courte)

Aération

Appuyer sur le bouton d'aération.

Aspiration

Tourner la molette de réglage vers l'arrière jusqu'à ce que le liquide atteigne exactement le trait souhaité.

Evacuation

Dans le cas de pipettes calibrées pour contenir "In": tourner la molette de réglage vers l'avant jusqu'à ce que le liquide soit évacué. Rincer la pipette au moins 3 fois.
Dans le cas de pipettes calibrées pour écoulement "Ex": appuyer sur le bouton d'aération jusqu'à ce que le liquide soit écoulé (tout en respectant le temps d'attente, si applicable).

Selon l'alinéa 8 du Règlement allemand de Prévention des accidents, il est interdit de pipetter à la bouche ou avec un tuyau buccal, à cause du risque d'infection élevé.
Par conséquent: utiliser un auxiliaire de pipetage!

IV. Travailler avec des appareils Liquid Handling

Les exigences de plus en plus sévères quant à la qualité des résultats d'analyses et l'augmentation des échantillons à analyser dans les laboratoires exigent des appareils de mesure qui permettent de réaliser les travaux de routine dans la préparation d'échantillons le plus efficacement possible. Pour répondre à ces nécessités, les fabricants de matériel de laboratoire ont développé les appareils Liquid Handling representant le perfectionnement des appareils de volumétrie en verre et en matière plastique et permettant un travail rationnel avec un maximum de précision et de confort de manipulation.
Les appareils Liquid Handling de la plupart des fabricants fonctionnent selon des principes similaires. Cependant, il y a des différences plus ou moins importantes entre les appareils des divers fabricants, qui sont liées aux détails de construction et qui sont dues, entre autres, aux matériaux utilisés.
Pour l'explication du principe de fonctionnement et de l'utilisation d'appareils Liquid Handling, voici, à titre d'exemple, la description de quelques appareils de BRAND:

Distributeur adapt. sur flacon

Dispensette®

Distributeur adapt. sur flacon

seripettor®

Burette adapt. sur flacon

Bürette Digital

Pipette à coussin d'air, à un canal

Transferpette®

Pipette à coussin d'air, multicanaux

Transferpette® -8/-12

Pipette à déplacement positif

Transferpettor

Distributeur manuel, mécanique

HandyStep®

Distributeur manuel, électronique

HandyStep® electronic

4.1 Doser avec des distributeurs adaptables sur flacon

Qu'est-ce qu'on entend par "dosage"?
On entend par "dosage" l'évacuation répétitive de quantités définies de liquides.

Pour le dosage simple, rapide et précis de réactifs, on utilise fréquemment des distributeurs adaptables sur flacon, qui s'adaptent directement, ou à l'aide d'adaptateurs, sur les flacons de réactif courants. De ce fait, le transvasement de produits chimiques n'est plus nécessaire, ce qui rend le travail nettement plus facile, en particulier le dosage en série (substitution des éprouvettes graduées).

Principe commun du fonctionnement des distributeurs adaptables sur flacon

En déplaçant le piston vers le haut, la quantité de liquide ajustée est aspirée directement du flacon de réactif dans le piston de l'appareil. En déplaçant le piston vers le bas, le liquide est évacué à l'aide d'un système de soupapes à travers la canule de dosage.
Il n'est plus nécessaire ni d'ajuster le ménisque ni de respecter les temps d'attente.

On distingue deux types de distributeurs adaptables sur flacon: distributeurs à piston **flottant** et distributeurs avec piston **à joint d'étanchéité**.

4.1.1 Distributeurs à piston flottant, adaptables sur flacon

par ex. la Dispensette® de BRAND

Ce système fonctionne sans joint de piston, étant pour cela très robuste et d'un entretien facile. Le piston est incorporé dans le cylindre de dosage sans avoir contact avec celui-ci. Il existe un espace minime entre piston et cylindre de dosage de seulement quelques millièmes de millimètre, rempli de liquide. Ce film de liquide fonctionne comme un lubrificateur. C'est pourquoi le piston glisse avec très peu de frottement.

Domaines d'application

La **Dispensette® III** est l'appa-reil idéal pour doser des réactifs, tels que des acides forts comme par ex. H_3PO_4, H_2SO_4, des lessives alcalines, comme par ex. NaOH, KOH, des solutions salines, ainsi que pour doser un grand nombre de solvants organiques. Ce distributeur offre un très large éventail d'applications et peut être utilisé dans la gamme de volume de 0,1 à 100 ml.

La **Dispensette® Organic** est l'appareil idéal pour doser des solvants organiques, tels que des hydrocarbures chlorés et fluorurés, comme par ex. le trichlorotrifluoroéthane et le dichlorométhane, ou des acides, comme par ex. HCl et HNO_3 concentrés fumants, ainsi que pour doser l'acide trifluoracétique, le tetrahydrofurane et des peroxydes.
La **Dispensette® HF** est un appareil spécial pour le dosage de l'acide fluorhydrique (HF).

Matériaux

Les parties touchant au liquide sont en matériaux de haute gamme: verre borosilicaté, céramique, platine iridié (Dispensette® Organic: tantale), ETFE, FEP, PFA et capuchon à vis de la canule en PP. (Dispensette® HF: céramique au lieu de verre borosilicaté).

Sécurité lors du dosage de milieux corrosifs

Si l'on veut utiliser des distributeurs adaptables sur flacon, on doit donner une importance particulière aux dispositifs de sécurité conçus pour protéger l'utilisateur contre les milieux corrosifs. Pour la sécurité la plus grande possible, tous les modèles de la Dispensette®, par exemple, sont pourvus d'un système d'éjection de sécurité afin d'éviter, entre autres, les éclaboussures involontaires de milieu. Le capuchon à vis de la canule protège contre le contact accidentel avec des milieux.

Remarque importante!
Avant d'utiliser un distributeur adaptable sur flacon, l'utilisateur doit vérifier obligatoirement que celui-ci est approprié pour les réactifs à doser. Ces données peuvent, en règle générale, être obtenues à partir du mode d'emploi ou des documents d'information mis à disposition par le fabricant. En cas de doute, se renseigner directement auprès de celui-ci.

Surveillance des moyens de contrôle / Calibrage

Dans le cadre de la surveillance des moyens de contrôle conformément à ISO et aux directives GLP, il est obligatoire d'effectuer un contrôle régulier de l'exactitude des appareils de volumétrie et, si besoin est, un recalibrage. Dans le cas de la Dispensette®, par exemple, ces opérations peuvent être effectuées d'une manière facile et rapide dans le laboratoire de l'utilisateur.

4.1.2 Distributeurs avec piston à joint d'étanchéité, adaptables sur flacon

par ex. le seripettor® de BRAND

Le piston est pourvu d'un joint d'étanchéité. Grâce à sa construction, ce distributeur adaptable sur flacon est l'appareil approprié pour, entre autres, les travaux de dosage dans la routine quotidienne. Dans le cas des appareils fonctionnant selon ce principe, l'usure du joint est inévitable. Si nécessaire, l'unité piston/cylindre (unité de dosage) peut être remplacée de façon simple et rapide. Les forces d'actionnement pour le remplissage du seripettor® sont minimisées grâce à l'action de levage automatique d'un ressort.

Domaines d'application

Le domaine d'application est dans la routine quotidienne, pour doser des milieux non problématiques, comme par ex. les acides à faible concentration, tampons biologiques, milieux pour la culture de cellules, détergents biologiques, solvants polaires – et même les fortes lessives alca-lines. Le seripettor® est par-ticulièrement approprié pour le dosage de liquides ayant tendance à cristalliser. Le seripettor® peut être utilisé dans la gamme de volume de 1 à 25 ml.

Dosage semi-automatique

Une fois évacué le liquide, l'action de levage automatique du ressort remplit automatiquement le piston en le pressant vers le haut à nouveau (dosage semi-automatique).

Matériaux

Les parties dans le seripettor® qui touchent au liquide sont en polypropylène (PP), poly-éthylène (PE) et caoutchouc éthylène-propylène-diène (EPDM).

4.2 Titrer avec des burettes adaptables sur flacon

Qu'est-ce qu'on entend par "titrage"?
Le titrage est une méthode d'analyse pour la détermination quantitative d'une substance dissoute.

Comment ça fonctionne?

Un liquide d'un volume connu contenant une quantité inconnue d'une substance en solution est versé dans une fiole Erlenmeyer. (Pour une mesure exacte du volume, il est recommandé d'utiliser une pipette jaugée). On ajoute env. 3 gouttes d'un indicateur et agite la fiole brièvement. Ensuite, en agitant la solution de façon continue, on ajoute avec une burette lentement et continuellement, un réactif titrant approprié et de concentration connue jusqu'à ce qu'un virage de couleur de l'indicateur indique le point final. A l'aide de l'équation de la réaction chimique, on peut calculer la quantité de la substance en solution à partir du volume consommé et de la con-centration de la solution titrante, ainsi que du volume de l'échantillon présenté à l'avance.

Les burettes en verre étant difficiles à manier et faciles à casser, on a développé les "burettes à piston" ou bien "burettes adaptables sur flacon" pour simplifier le titrage de petites et moyennes séries d'analyses.

Principe commun du fonctionnement des burettes adaptables sur flacon

Les burettes adaptables sur flacon s'adaptent directement sur le flacon de réactif. En déplaçant le piston vers le haut, le liquide est aspiré du flacon de réactif dans le cylindre de l'appareil. En déplaçant le piston ensuite vers le bas, le liquide est lentement évacué à travers la canule de titrage dans la solution contenant l'analyte jusqu'à ce que le titrage soit terminé (par ex. virage de couleur de l'indicateur).

Lecture du volume

Dans le cas de burettes adaptables sur flacon, le volume de la solution titrée peut être lu directement dans l'affichage de la burette: des erreurs de lecture du ménisque sont ainsi évitées et il n'est plus besoin de respecter des temps d'attente.

par ex. la Burette Digitale III de BRAND

Maniement

En tournant les molettes, le piston de la Burette Digitale III se déplace vers le haut, le réactif titrant est aspiré. La soupape de dosage inverse permet l'élimination de bulles d'air presque sans perte de milieu. Ensuite, le mode de titrage est sélectionné et le point zéro est ajusté en appuyant sur les touches de fonction correspondantes. En tournant les molettes, le piston se déplace vers le bas et le réactif titrant est évacué à travers la canule de titrage.

Domaines d'application

La Burette Digitale III peut être utilisée dans un grand nombre de domaines, pour des solutions aqueuses et non-aqueuses (par ex. KOH alcoolique) jusqu'à 2N.

Matériaux

Les parties touchant au liquide sont en verre borosilicaté, PTFE, FEP, PFA, ETFE, platine iridié, céramique Al_2O_3 et PP (capuchon à vis de la canule).

Sécurité

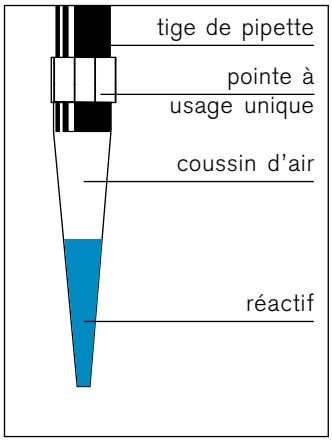
Pour répondre aux exigences de sécurité, la Burette Digitale III est également pourvue d'un système d'éjection de sécurité.

Surveillance des moyens de contrôle

Dans le cadre de la surveillance des moyens de contrôle conformément à ISO et aux directives GLP, le contrôle et, si besoin est, le recalibrage de la Burette Digitale III peuvent être effectués d'une manière facile et rapide dans le laboratoire de l'utilisateur.

4.3 Pipetter avec des pipettes à coussin d'air

Qu'est-ce qu'on entend par "pipetage"?
Le pipetage est l'aspiration et l'évacuation exactes de liquides.
La pipette à coussin d'air sert à pipetter des liquides dans la gamme du microlitre.
Elle fonctionne selon le principe du coussin d'air (air interface).



Principe commun de fonctionnement

En déplaçant le piston dans la tige de pipette vers le haut et le bas, il se produit un vide partiel ou bien une surpression dans la tige. De cette façon, le liquide est aspiré dans la pointe, ou bien évacué. Le liquide est séparé du piston et de la tige par un coussin d'air.

Avantage

Pas de mouillage de l'appareil, vu que le liquide entre seulement dans la pointe qui n'est utilisée qu'une seule fois. Ainsi est assuré un travail sans résidus – ce qui est particulièrement important pour les domaines dans lesquels il faut travailler de façon stérile ou sans contamination.

4.3.1 Pipettes à un canal

par ex. la Transferpette® de BRAND, pour la gamme de volume de 0,1 µl à 5000 µl.

Que ce soit dans le laboratoire de routine ou dans la recherche – précision et fonctionnalité sont les caractéristiques qui devraient être standard pour le pipetage avec des pipettes à coussin d'air. Les caractéristiques principales de la Transferpette® sont: précision, ergonomie, légèreté et facilité de manipulation.

Maniement

Aspirer le réactif

Appuyer sur la touche de pipetage jusqu'à la première butée, plonger la pointe dans le réactif et laisser la touche de pipetage revenir lentement.

Evacuer le réactif

Appuyer sur la touche de pipetage jusqu'à la deuxième butée.

Ejecter la pointe

Appuyer sur le capuchon d'expulsion.

Réglage du volume

Calibrage

Les directives ISO et GLP demandent un contrôle régulier de l'exactitude des appareils de volumétrie et, si besion est, un ajustage. La Transferpette® est construite de telle manière que l'ajustage peut être effectué de façon simple et rapide dans le laboratoire même.

4.3.2 Pipettes multicanaux

Les pipettes multicanaux fonctionnent également selon le principe du coussin d'air. Avec elles, 8 ou bien 12 pipetages simultanés peuvent être effectués.

En travaillant selon la méthode de microtitrage, on pipette dans les plaques de microtitration de 8 x 12 cupules (plaques de microtitration de 96 cupules), dont les distances sont normalisées. Cette technique permet, entre autres, la détermination d'infimes quantités de protéines (de la gamme micro) et ne peut être appliquée de façon rationnelle qu'avec des pipettes multicanaux. Les pipettes multicanaux sont particulièrement appropriées pour le transfert rationnel d'échantillons et pour les dilutions en série étant idéales pour le lavage des plaques de microtitration.

Domaines d'application

- Diagnostic clinique
- Analyse agroalimentaire
- Immunologie
- Biochimie
- Culture de cellules

Techniques d'analyse

- Immunofluorescence (IF)
- Dosage radio-immunologique (RIA)
- Dosage immunoenzymatique (EIA, ELISA)
- Dilution de cultures cellulaires

par ex. les Transferpette®-8/-12 de BRAND,
pour la gamme de volume de 0,5 µl à 300 µl.

Les caractéristiques principales des Transferpette®-8/-12 sont: précision, ergonomie, légèreté et facilité de manipulation.

Maniement

Aspirer le réactif

Appuyer sur la touche de pipetage jusqu'à la première butée, plonger les pointes dans le réactif et laisser la touche de pipetage revenir lentement.

Evacuer le réactif

Appuyer sur la touche de pipetage jusqu'à la deuxième butée.

Ejecter les pointes

Appuyer sur le capuchon d'expulsion.

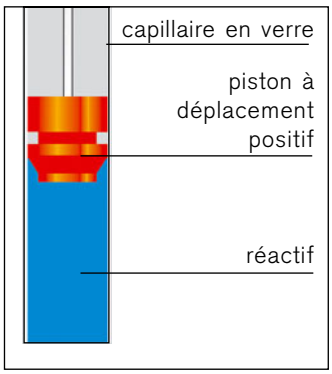
Réglage du volume

Calibrage

Les directives ISO et GLP demandent un contrôle régulier de l'exactitude des appareils de volumétrie et, si besion est, un ajustage.Les Transferpette®-8/-12 sont construites de telle manière que l'ajustage peut être effectué de façon simple et rapide dans le laboratoire même.

4.4 Pipetter avec des pipettes à déplacement positif

Là où les pipettes à coussin d'air touchent aux limites de leurs performances, l'efficacité des pipettes à déplacement positif se fait ressentir. Elles sont particulièrement appropriées pour les liquides visqueux ou peu visqueux, les liquides moussants ou à haute pression de vapeur.



Principe de fonctionnement

Contrairement aux pipettes à coussin d'air, le piston de la pipette à déplacement positif est en contact direct avec le liquide à pipetter. Le piston, bien placé, essuie toujours parfaitement les parois des capillaires/pointes - ceci jusqu'à la dernière goutte dont la sortie de l'orifice est bien visible. Grâce à ce principe, on obtient des résultats exactement reproductibles indépendamment de la vitesse du pipetage.

Les capillaires ou bien les pointes n'ont pas besoin d'être jetés après chaque opération de pipetage étant donné que le mouillage résiduel est minime et peut être négligé en règle générale. Toutefois: dans le cas où aucun entraînement de liquide n'est admissible, par ex. avec des milieux infectieux ou radioactifs, il est recommandé d'utiliser une pipette à coussin d'air pour le travail avec des pointes à usage unique.

Avantage

Un maximum de précision et un travail rapide. Les pointes ou bien capillaires peuvent être utilisés plusieurs fois. La lecture du ménisque n'est plus nécessaire lors du pipetage.

par ex. le Transferpettor de BRAND, pour la gamme de volume de 1 µl à 10 ml.

Domaines d'application

Les milieux de viscosité élevée, comme par ex. les solutions protéiques très concentrées, les huiles, les résines ou les graisses.

Les milieux à haute pression de vapeur, comme par ex. les alcools, les éthers et les hydrocarbures.

Les milieux ayant tendance à mousser, comme par ex. les solutions tensio-actives.

Maniement (analogue à des pipettes à coussin d'air)

Réglage du volume

Régler sur le volume souhaité en tournant le bouton de pipetage.

Aspiration

Enfoncer le bouton de pipetage et le piston jusqu'à la butée, plonger le cap/la pointe dans le milieu et aspirer le milieu en laissant revenir lentement le bouton de pipetage.

Evacuation

Enfoncer à nouveau le bouton de pipetage et le piston jusqu'à la butée pour évacuer le milieu.

4.5 Doser avec des distributeurs manuels

Un des travaux les plus importants et les plus fréquents dans les laboratoires médicaux, pharmaceutiques et biologiques est la distribution de liquides. Des techniques de travail habituelles et très utilisées sont le dosage, la distribution et le pipetage. La distribution est l'évacuation répétitive de quantités de liquide identiques. Cette technique possède un grand avantage sur le pipetage: elle permet une économie considérable de temps, vu que l'aspiration répétée n'est plus nécessaire. Étant donnée l'utilisation répandue de cette technique de travail, l'ergonomie et le dessin des appareils jouent un rôle essentiel.
Les travaux de distribution au laboratoire sont rarement réalisés avec des systèmes complètement automatiques éliminant toute manipulation manuelle. Pour ces travaux de routine, on utilise en règle générale des distributeurs manuels.

On distingue deux types de distributeurs manuels:

- distributeurs manuels totalement mécaniques
- distributeurs manuels électroniques à moteur

Principe de fonctionnement

Dans le cas de distributeurs manuels mécaniques, le réglage du volume s'effectue à l'aide d'une crémaillère, où s'engrène un pignon pas à pas, en combinaison avec les pointes à déplacement direct. Pour cette raison, ces appareils ne permettent qu'un nombre déterminé d'opérations de distribution clairement définies. Il n'est pas possible d'ajuster des volumes intermédiaires. Le principal avantage de ces appareils est leur construction robuste, le désavantage est souvent la fatigue due aux efforts musculaires.
Le principe de fonctionnement éprouvé du distributeur manuel est également le déplacement positif. Les milieux problématiques, comme par ex. les solutions à haute pression de vapeur, de viscosité élevée ou les milieux moussants, ne représentent aucun problème pour le distributeur manuel. En fonction du type d'application, le distributeur manuel peut être utilisé avec les pointes DD (à déplacement direct) de différentes capacités.

4.5.1 Distributeurs manuels mécaniques

par ex. le HandyStep® de BRAND

Le distributeur manuel simplifie le pipetage en série en évacuant en plusieurs fractions de volume un liquide préalablement aspiré.
En fonction de la capacité des pointes DD utilisées qui varient entre 10 µl et 5 ml, jusqu'à 49 opérations de pipetage peuvent être réalisées sans remplir l'appareil à nouveau. Ces données sont calculées à partir de la position ajustée du bouton coulissant (1-5) en combinaison avec le type de pointe utilisé.

Exemple des possibilités de combinaison avec des pointes DD différentes

Opérations et gammes de volume

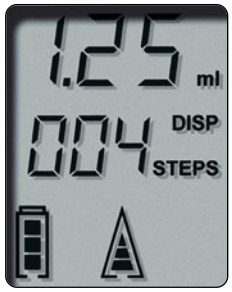
Position piston	1	2	3	4	5
Nombre d'opérations	49	24	15	11	9
Pointe DD ml	**Volume de dosage µl**				
0,5	10	20	30	40	50
1,25	25	50	75	100	125
2,5	50	100	150	200	250
5,0	100	200	300	400	500
12,5	250	500	750	1000	1250
25,0	500	1000	1500	2000	2500
50,0	1000	2000	3000	4000	5000

Les pointes à déplacement direct sont disponibles en 7 capacités différentes, non stériles ou stériles. A part les pointes DD

Ergonomie et dessin

Les travaux répétitifs de forme intense avec des appareils manuels peuvent provoquer de nombreux problèmes musculaires à divers égards: ils présentent un risque particulièrement élevé pour la musculature de la nuque et des épaules, ainsi que celle des bras et des pouces. Surtout pour les distributeurs manuels, l'exigence concernant un maniement économisant les forces est très importante, étant donné que ces appareils sont utilisés presque exclusivement pour les dosages en série. Particulièrement pour la réalisation de longues séries dans la même position, l'ergonomie et le dessin des appareils jouent un rôle décisif.

4.5.2 Distributeurs manuels électroniques à moteur

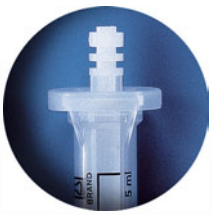


Principe de fonctionnement

En appuyant sur une touche, le mécanisme d'aspiration ou bien d'évacuation se met en marche. Le piston des pointes se déplace à l'aide d'un moteur, l'évacuation du volume et le nombre d'opérations sont pilotés par un microprocesseur.

Cette combinaison d'ergonomie et de dessin permet un travail détendu. Le piston essuie toujours parfaitement les parois intérieures des pointes, ce qui permet d'obtenir des résultats exactement reproductibles indépendamment des influences d'un coussin d'air. Les pointes à déplacement direct rendent possible la distribution de liquides à haute densité, de liquides très volatils ou à haute pression de vapeur et de liquides ayant tendance à mousser.

par ex. le HandyStep® electronic de BRAND



Le HandyStep® electronic économise du temps et évite des erreurs grâce à l'identification automatique de la capacité des pointes DD PLASTIBRAND®. Celles-ci possèdent un code de capacité incorporé dans leur piston. Une fois la pointe logée, sa capacité identifiée est automatiquement affichée. Le volume à doser peut maintenant être sélectionné simplement et rapidement. Le réglage de l'appareil reste conservé en logeant une nouvelle pointe DD de la même capacité.

Tandis que les distributeurs manuels mécaniques, de par leur construction, servent uniquement pour le dosage de fractions de volume à nombres entiers sans décimaux, le HandyStep® electronic permet le dosage de fractions de volume telles que 1,01 ml.

Les différents modes de travail:

Distribution
Mode standard

Une fois le liquide aspiré, celui-ci est distribué de façon répétée dans les fractions de volume ajustées par l'utilisateur.

Distribution automatique

L'appareil calcule la valeur moyenne sur trois fractions et continue à travailler automatiquement dans ce rythme.

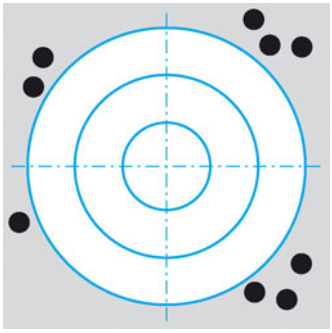
Pipetage

Travailler comme avec une pipette à déplacement positif. Un volume défini auparavant est aspiré et évacué.

V. Sur l'exactitude

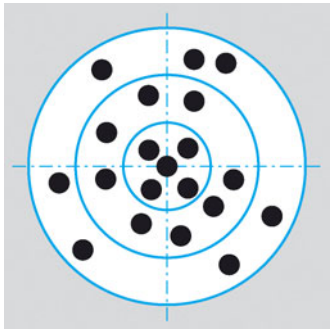
Tolérance, exactitude et coefficient de variation

Plusieurs termes sont acceptés quant à la description de l'exactitude: pour les appareils de volumétrie en verre est utilisé le terme **"tolérance"**, alors que pour les appareils Liquid Handling se sont établis les termes statistiques **"exactitude [%]"** et **"coefficient de variation [%]"** (definitions voir page 32).



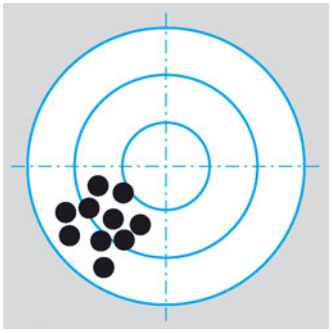
Exactitude mauvaise:
Les impacts sont loin du centre.

Précision mauvaise:
Les impacts sont plutôt dispersés.



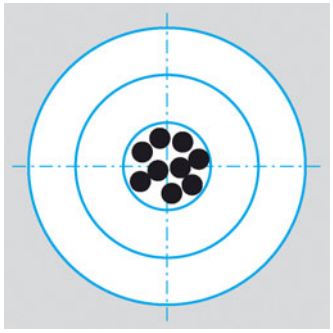
Exactitude bonne:
Les impacts sont, en moyenne, répartis régulièrement autour du centre.

Précision mauvaise:
Pas d'erreur grossière, mais les impacts sont plutôt dispersés.



Exactitude mauvaise:
Bien que les impacts soient près les uns des autres, le but (valeur vraie) n'est quand même pas atteint.

Précision bonne:
Tous les impacts sont près les uns des autres.



Exactitude bonne:
Tous les impacts sont près du centre, donc près de la valeur vraie.

Précision bonne:
Tous les impacts sont près les uns des autres.

Si la tolérance ou bien l'exactitude et le coefficient de variation des appareils de volumétrie se situent dans les marges définies par les normes DIN et ISO, ils peuvent être attestés conformes.

L'attestation de conformité BH

L'attestation de conformité doit garantir une qualité uni-forme et constamment élevée – qualité dans le sens d'un résultat de mesure exact.

Régulations sur l'étalonnage et attestation de conformité

Les régulations allemandes sur l'étalonnage des poids et mesures du 12 août 1988 exigent une attestation de conformité au lieu d'un étalonnage pour les appareils de volumétrie prévus et utilisés pour des mesures dans le secteur régi par la loi, ainsi que dans le secteur médical et pharmaceutique (fabrication et contrôle de médicaments). Ces régulations s'appliquent également aux accessoires importants pour la technique de mesure (par ex. pointes de pipette pour pipettes à piston).

Que signifie conformité?

Conformité veut dire: conformité d'un appareil avec l'homologation pour le secteur régi par la loi selon les régulations allemandes sur l'étalonnage des poids et mesures (disposition 12).
Les détails concernant le procédé d'attestation de conformité sont décrits dans la norme DIN 12 600.

Comment reconnaître l'attestation de conformité?

En général, l'appareil porte même le signe de conformité, soit un H stylisé, ainsi que le signe de celui qui atteste la conformité. Pour les produits à usage unique et les appareils de Liquid Handling, le H est visible sur l'emballage et/ou sur les papiers d'accompagnement.

Qui atteste la conformité?

En imprimant le signe de conformité "H" et le signe du fabricant –pour notre cas "B" pour BRAND- le fabricant (sur demande également le bureau allemand de vérification des poids et mesures) atteste que l'appareil correspondant répond aux exigences des régulations allemandes sur l'étalonnage et à celles des normes relatives au sujet.

Remarque:
entre autres, les pipettes à dilution de sang, les cellules de numération pour globules sanguins, les thermomètres et les pycnomètres ne sont pas attestés conformes, mais peuvent toujours être soumis à un étalonnage.

VI. La surveillance des moyes de contrôle

Qu'est-ce qu'on entend par "moyens de contrôle"?

On entend par "moyens de contrôle" tous les systèmes de mesure utilisés pour la vérification des caractéristiques publiées des produits.

Dans tout laboratoire analytique, l'exactitude des moyens de contrôle utilisés doit être évidente afin d'obtenir des résultats d'analyse fiables. Cette exigence est valable dans une large mesure pour les laboratoires qui travaillent conformément aux directives GMP-GLP, qui sont accrédités selon la norme DIN EN 45 001 ou bien ISO/IEC 17025, ou certifiés selon DIN EN ISO 9000 et suivantes. Ces directives exigent l'existence d'instructions écrites qui décrivent en détail le procédé du contrôle des moyens de contrôle. De toute façon, il faut indiquer pour les moyens de contrôle les valeurs limites pour la tolérance d'erreurs, ou bien l'exactitude et le coefficient de variation, et il faut déterminer quelles mesures sont à prendre en cas de dépassement de ces valeurs limites.

A quel moment et à quelle fréquence est-il nécessaire d'effectuer le contrôle?

Dans le cadre de la surveillance des moyens de contrôle, il est obligatoire de connaître et de documenter l'exactitude et l'incertitude de mesure de tous les systèmes de mesure avant de les libérer pour l'utilisation. De même, il est obligatoire d'effectuer des contrôles périodiques selon un rythme défini (voir EN ISO 9001, disposition 4.11.1).

Le motif:
L'exactitude de mesure d'appareils de volumétrie peut être modifiée résultant par ex. de l'utilisation de produits chimiques agressifs, des procédés et de la fréquence du nettoyage.
Etant donné que l'exactitude exigée pour les mesures dépend de façon considérable des conditions d'application, l'utilisateur lui-même doit définir le rythme des contrôles. Des intervalles de surveillance typiques sont par ex., en fonction du type de l'appareil, allant de tous les 3 mois jusqu'à tous les 3 ans.

Quel est le procédé selon lequel s'effectue le contrôle?

Le contrôle des appareils de volumétrie s'effectue de façon gravimétrique, dans le cas des appareils Liquid Handling selon la norme ISO 8655, et dans le cas des appareils de volumétrie en verre selon ISO 4787. Toutefois, la réalisation du contrôle et les calculs ne sont pas si faciles que ça. BRAND met à disposition, pour tous les appareils de volumétrie, des instructions de contrôle qui décrivent, un point après l'autre, le procédé du contrôle permettant le calcul à l'aide de simples tableaux. Outre cela, BRAND offre un logiciel qui effectue tous les calculs nécessaires, les enregistre dans une banque de données et imprime les résultats dans un procès-verbal d'essai au choix de l'utilisateur.

Investissement de temps pour le contrôle?

La surveillance des moyens de contrôle ne doit pas devenir le travail principal au laboratoire analytique, mais doit être limitée à un espace de temps raisonnable. Ceci demande un maniement simple et, par là, réalisation rapide et économique. Les instructions de contrôle et le logiciel EASYCAL™ spécialement développés à cette fin, en combinaison avec les appareils de volumétrie avec certificat individuel ou de lot, sont appropriés pour atteindre une diminution considérable du temps investi dans le contrôle.

Le contrôle est-il également nécessaire pour les appareils de volumétrie attestés conformes?

Comme tous les moyens de contrôle, les appareils de volumétrie attestés conformes selon la norme DIN 12 600 sont également soumis à la surveillance des moyens de contrôle. Il n'est pas déterminé clairement et sans équivoque si, pour ces appareils, le premier contrôle est obligatoire ou non. Il est donc de la responsabilité de l'utilisateur de décider comment procéder. Toutefois, par sécurité, il est conseillé d'effectuer le premier contrôle sur un échantillon représentatif choisi par un procédé aléatoire. Ceci documente en même temps l'état initial pour les contrôles futurs. Une alternative est, dans le meilleur des cas, l'utilisation d'appareils de volumétrie avec certificat du fabricant.

Termes techniques des moyens de contrôle

Calibrage

On entend par "calibrage" la détermination du volume réel. Le calibrage doit être effectué de façon rapide et simple, les sources d'erreurs devraient être évitées. BRAND offre gratuitement des instructions de contrôle détaillées pour tous les appareils de volumétrie.

Ajustage

On entend par "ajustage" la correction de l'écart de la valeur mesurée par rapport à la valeur vraie. Dans les procédés traditionnels, l'ajustage s'effectue, en règle générale, en tournant de façon indéfinie une vis de réglage. Après le réglage, il est nécessaire de procéder à un deuxième contrôle du volume. Dans la plupart des cas, le réglage du volume n'est pas correct après la première tentative, il faut renouveler les opérations en plusieurs étapes. Dans le cas des appareils Liquid Handling de BRAND, pourvus de la technique Easy Calibration, par contre, l'ajustage peut être effectué après le contrôle gravimétrique du volume de façon directe et précise en une étape et en très peu de temps.

6.1 Procédé du contrôle de volume

par ex. Transferpette® Digital, 20-200µl

Nous recommandons un contrôle de la Transferpette® une fois tous les 3 à 12 mois, comme décrit par la suite. En fonction de la fréquence d'utilisation de l'appareil et des milieux utilisés, ces contrôles peuvent être effectués plus souvent.

A) Préparation:

1. Déterminer le type de l'appareil et le volume nominal.
2. Lire le numéro de série.
3. En cas de souillures, démonter, si nécessaire, l'appareil et le nettoyer (voir mode d'emploi).
4. Vérifier s'il y a des détériorations (boîtier, bout de la tige de pipette, dispositif d'éjection, piston, joint) et, dans le cas de détériorations, se procurer des pièces de rechange correspondantes.
5. Placer la Transferpette® avec ses accessoires dans la salle d'essai pendant au moins 2 heures pour les tempérer, toutes les pièces étant déballées.

B) Essai de fonctionnement:

1. Placer une nouvelle pointe de pipette.
2. Pré-rincer une fois la pointe de pipette avec le liquide d'essai (eau désionisée).
3. La pointe de pipette étant remplie, tenir l'appareil verticalement et observer environ 10 sec. s'il se forme une goutte au bout de la pointe de pipette. Ce faisant, veiller à ce que la pointe ne s'échauffe pas, par ex. sous l'effet du soleil ou d'autres facteurs similaires. Ensuite évacuer le liquide d'essai. Pour les petits volumes inférieurs à environ 50 µl, la formation de gouttes est empêchée, ceci même en cas de perte d'étanchéité (tension superficielle).
   Un petit conseil: laisser en bas un petit coussin d'air; s'il descend, cela signifie perte d'étanchéité. Un autre conseil: suspendre une goutte au bout de la pointe afin d'éviter la tension superficielle.

C) Contrôle gravimétrique:

1. Déterminer la température du liquide d'essai.
2. Placer une nouvelle pointe de pipette.
3. Conditionner la pipette: aspirer le liquide d'essai cinq fois et l'évacuer. Ce procédé augmente l'exactitude du contrôle.
4. Pré-rincer une fois la pointe de pipette.
5. Placer le récipient à pesée sur la balance et la remettre à zéro.
6. Enlever le récipient à pesée de la balance.
7. Evacuer l'échantillon dans le récipient à pesée. Ce faisant, vider totalement la pointe de pipette à l'aide de la surcourse.
8. Placer le récipient à pesée sur la balance; prendre note de la valeur obtenue de la pesée.
9. Remettre la balance à zéro.
10. Répéter les n^{os} 2 – 9 quatre fois et inscrire les valeurs obtenues des pesées de 100 %, 50 % et 10 % du volume nominal au procès-verbal d'essai.

Valeurs du contrôle gravimétrique à 21,5 °C (Z = 1,0032)

Volume contrôlé: (µl)	200,0000
Valeur vraie: (mg)	199,3620
x_1	200,2000
x_2	199,6000
x_3	199,4900
x_4	199,7000
x_5	199,7000

Les valeurs obtenues des pesées lors du contrôle gravimétrique ne sont que des valeurs de masse du volume pipetté. Pour obtenir le volume réel, il est nécessaire d'effectuer une correction qui tient en compte la température (voir page suivante, calculs manuels). Des instructions de contrôle (SOPs) détaillées sont à disposition gratuitement pour tous les appareils Liquid Handling.

Plusieurs termes sont acceptés quant à la description de l'exactitude: pour les appareils de volumétrie en verre est utilisé le terme **"tolérance"**, alors que pour les appareils Liquid Handling se sont établis les termes statistiques **"exactitude [%]"** et **"coefficient de variation [%]"**.

Tolérance:
La tolérance définie dans les normes correspondantes indique la déviation maximale admissible de l'appareil par rapport à la valeur vraie.

$$\text{Tol.} \geq \left| V_{\text{réelle}} - V_{\text{vraie}} \right|$$

Exactitude:
L'exactitude (E) est la difference entre la valeur moyenne (V) et la valeur vraie (V), se référant à la valeur vraie en pour cent. Elle est une mesure de l'erreur systématique, c'est-à-dire une évaluation de la proximité entre la valeur moyenne et la valeur vraie.

$$E\,[\%] = \frac{\bar{V} - V_{\text{vraie}}}{V_{\text{vraie}}} \cdot 100$$

Coefficient de variation:
Le coefficient de variation (CV) est défini comme écart type en pour cent, se référant à la valeur moyenne. Il est une mesure de l'erreur accidentelle, c'est-à-dire une évaluation de la proximité entre les différentes valeurs mesurées.

$$CV\,[\%] = \frac{s \cdot 100}{\bar{V}}$$

Si, par contre, la dispersion des différents résultats de mesure autour de la valeur moyenne V est indiquée en unités de volume, on utilise le terme **"précision"**.

Dans le cas d'une grande proximité, il est possible d'indiquer une tolérance pour le volume nominal (V_N) de l'appareil de volumétrie correspondant, calculée à partir des valeurs indiquées de E [%] et CV [%].

$$\text{Tol.} \geq \frac{|R\,[\%]| + 2VK\,[\%]}{100\ \%} \cdot V_N$$

La tolérance ainsi calculée représente une valeur maximale qui, en règle générale, n'est pas atteinte dans la pratique.

1. Calculer le volume moyen:

Le calcul de correction se réalise en multipliant la valeur moyenne des valeurs obtenues des pesées ($\overline{x}$) par le facteur Z (µl/mg) qui tient en compte la densité de l'eau, la température du contrôle et la pression atmosphérique. Z se monte à 1,0032 µl/mg, se référant à 21,5 °C, 1013 mbar (hPa) et à l'utilisation d'eau distillée.

$$\overline{V} = \overline{x} \cdot z$$

$$\overline{V} = \frac{x_1 + x_2 + x_3 + x_4 + x_5}{5} \cdot Z$$

$$\overline{V} = \frac{200{,}2 + 199{,}6 + 199{,}49 + 199{,}7 + 199{,}7}{5} \cdot 1{,}0032$$

$$\overline{V} = 199{,}738 \cdot 1{,}0032$$

$$\overline{V} = 200{,}3772$$

2. Calculer l'exactitude:

$$E\,[\%] = \frac{\overline{V} - V_{nominale}}{V_{nominale}} \cdot 100$$

$$E\,[\%] = \frac{200{,}3772 - 200}{200} \cdot 100$$

$$E\,[\%] = 0{,}189$$

3. Afin de pouvoir calculer le coefficient de variation, calculer d'abord l'écart type

$$s = Z \cdot \sqrt{\frac{(x_1 - \overline{x})^2 + (x_2 - \overline{x})^2 + (x_3 - \overline{x})^2 + (x_4 - \overline{x})^2 + (x_5 - \overline{x})^2}{4}}$$

$$s = 1{,}0032 \cdot \sqrt{\frac{(200{,}2 - 199{,}74)^2 + (199{,}6 - 199{,}74)^2 + (199{,}49 - 199{,}74)^2 + (199{,}7 - 199{,}74)^2 + (199{,}7 - 199{,}74)^2}{4}}$$

$$s = 1{,}0032 \cdot \sqrt{\frac{0{,}29688}{4}}$$

$$s = 0{,}273$$

4. Le coefficient de variation est alors obtenu du calcul suivant:

$$CV\,[\%] = \frac{s \cdot 100}{\overline{V}}$$

$$CV\,[\%] = \frac{0{,}273 \cdot 100}{200{,}3772}$$

$$CV\,[\%] = 0{,}136$$

Pour l'exemple calculé, le résultat suivant est obtenu:

Evaluation du contrôle gravimétrique:

Volume contrôlé: (µl)	200,0000
Valeur moyenne: (µl)	200,3772
E [%] réelle	0,189
CV [%] réel	0,136
E [%] vraie*	0,500
CV [%] vrai*	0,200

* marges de tolérance du mode d'emploi

$\Rightarrow$l'appareil est en bon état!

Si les valeurs calculées de l'exactitude (E [%]) et du coefficient de variation (CV [%]) se situent dans les marges de tolérance ou correspondent à celles-ci, l'appareil est en bon état.

Note:
Dans le cas d'un contrôle de volumes partiels, les données indiquées pour $E\,[\%]_{nom.}$ et $CV\,[\%]_{nom.}$, se référant au volume nominal doivent être converties.

Pour le volume de contrôle de 20 µl s'applique:

$$E_{20\,\mu l}[\%]_{nom.} = \frac{V_N \cdot E_N[\%]}{V_{20\,\mu l}}$$

$$E_{20\,\mu l}[\%]_{nom.} = \frac{200\,\mu l \cdot 0{,}5\,\%}{20\,\mu l}$$

$$E_{20\,\mu l}[\%]_{nom.} = 5\,\%$$

Que faire au cas où les valeurs d'un appareil contrôlé se situent hors des marges de tolérance?

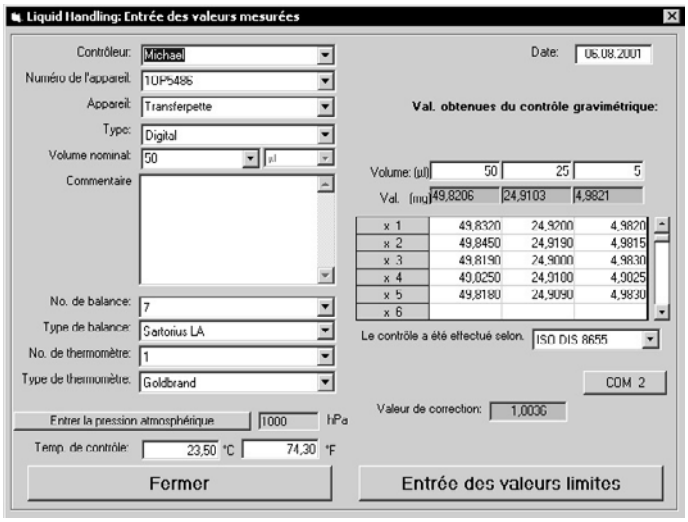
1. Vérifier si toutes les instructions des instructions de contrôle ont été effectuées correctement.
2. Prendre en considération les indications sur le paragraphe "Dérangement – que faire?" du mode d'emploi.
3. Ajuster l'appareil suivant les instructions dans le mode d'emploi.

Si ces mesures ne livrent pas le résultat souhaité, veuillez contacter le fabricant afin de pouvoir clarifier le procédé à suivre.

6.2 Logiciel de calibrage

Parfois la surveillance des moyens de contrôle conformément à GLP et ISO 9000 n'est pas aussi simple que cela. Non seulement il arrive facilement que l'on fasse des erreurs de calcul à cause des formules compliquées, la documentation des résultats aussi entraîne parfois des difficultés. Afin de vous faciliter ce travail le plus souvent difficile et fastidieux, quelques fabricants de matériel de laboratoire ont développé des logiciels de calibrage spéciaux.

par ex. EASYCAL™, le logiciel de calibrage de BRAND


Liquid Handling: Entrée des valeurs mesurées
Contrôleur: Michael
Date: 06.08.2001
Numéro de l'appareil: 10P5486
Appareil: Transferpette
Type: Digital
Volume nominal: 50 µl
Commentaire
Val. obtenues du contrôle gravimétrique:
Volume: (µl) 50 25 5
Val. (mg) 49,8206 24,9103 4,9821
x 1 49,8320 24,9200 4,9820
x 2 49,8450 24,9190 4,9815
x 3 49,8190 24,9000 4,9830
x 4 49,8250 24,9100 4,9825
x 5 49,8180 24,9090 4,9830
x 6
No. de balance: 7
Type de balance: Sartorius LA
No. de thermomètre: 1
Type de thermomètre: Goldbrand
Le contrôle a été effectué selon. ISO DIS 8655
COM 2
Entrer la pression atmosphérique 1000 hPa
Valeur de correction: 1,0036
Temp. de contrôle: 23,50 °C 74,30 °F
Fermer
Entrée des valeurs limites

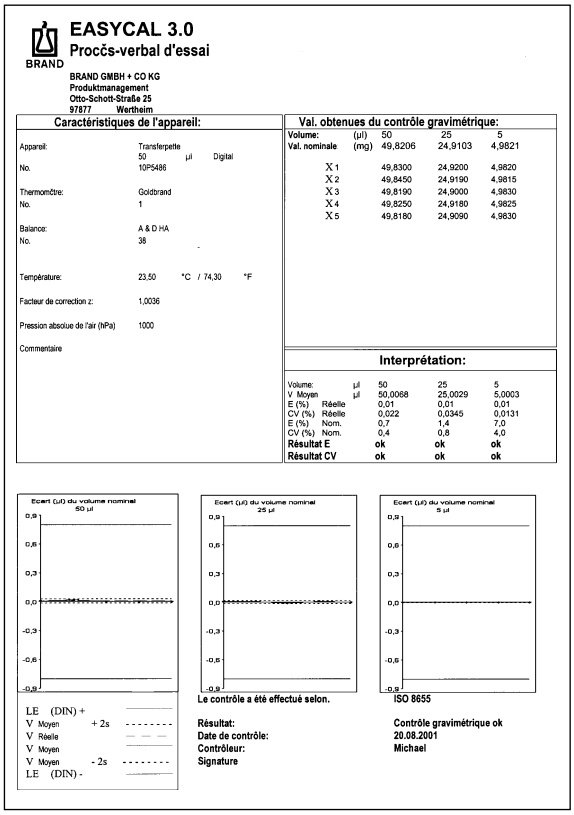
EASYCAL™ vous épargne les calculs et effectue automatiquement la documentation qui en fait partie! A cet effet, vous n'avez besoin que d'une balance analytique, d'un ordinateur personnel, d'une imprimante (en option) et du logiciel EASYCAL™ 3.0.

- Contrôle des appareils, indépendamment de leur fabricant.
- Données de base de nombreux appareils déjà déposées.
- Contrôle conformément aux normes ISO 4787, ISO 8655 et autres.

Une version de démonstration du logiciel est disponible sur Internet (**www.brand.de**) pour être téléchargée ou peut être obtenue gratuitement sur CD-ROM.

Surveillance des moyens de contrôle rendue facile

Le logiciel de calibrage EASYCAL™ 3.0 offre une simplification de la surveillance des moyens de contrôle conformément à GLP-GMP et EN ISO 9001 pour les appareils de Liquid Handling et appareils de volumétrie en verre et matière plastique. Le pratique logiciel peut être manipulé de façon intuitive. Après détermination du type de l'appareil à contrôler - appareil Liquid Handling ou appareil de volumétrie en verre ou en matière plastique**-,** on inscrit dans la fenêtre "Entrée des valeurs mesurées" les données nécessitées les unes après les autres. Tous les résultats sont enregistrés dans une banque de données. L'historique des contrôles gestionne les appareils déjà contrôlés rendant ainsi la surveillance des moyens de contrôle plus facile. Les intervalles de contrôle déterminés en fonction des instructions de contrôle (SOPs) peuvent être définis individuellement.


EASYCAL 3.0
Procčs-verbal d'essai
BRAND
BRAND GMBH + CO KG
Produktmanagement
Otto-Schott-Straße 25
97877 Wertheim
Caractéristiques de l'appareil:
Appareil: Transferpette 50 µl Digital
No. 10P5486
Thermomčtre: Goldbrand
No. 1
Balance: A & D HA
No. 38
Température: 23,50 °C / 74,30 °F
Facteur de correction z: 1,0036
Pression absolue de l'air (hPa) 1000
Commentaire
Val. obtenues du contrôle gravimétrique:
Volume: (µl) 50 25 5
Val. nominale (mg) 49,8206 24,9103 4,9821
X 1 49,8300 24,9200 4,9820
X 2 49,8450 24,9190 4,9815
X 3 49,8190 24,9000 4,9830
X 4 49,8250 24,9180 4,9825
X 5 49,8180 24,9090 4,9830
Interprétation:
Volume: µl 50 25 5
V Moyen µl 50,0068 25,0029 5,0003
E (%) Réelle 0,01 0,01 0,01
CV (%) Réelle 0,022 0,0345 0,0131
E (%) Nom. 0,7 1,4 7,0
CV (%) Nom. 0,4 0,8 4,0
Résultat E ok ok ok
Résultat CV ok ok ok
Ecart (µl) du volume nominal 50 µl
Ecart (µl) du volume nominal 25 µl
Ecart (µl) du volume nominal 5 µl
LE (DIN) +
V Moyen + 2s
V Réelle
V Moyen
V Moyen - 2s
LE (DIN) -
Le contrôle a été effectué selon.
ISO 8655
Résultat: Contrôle gravimétrique ok
Date de contrôle: 20.08.2001
Contrôleur: Michael
Signature

Procès-verbal d'essai imprimé

6.3 Service de calibrage

BRAND offre un service complet comprenant calibrage et, si besoin est, également réparation et ajustage des moyens de mesure aux personnes pour lesquelles le calibrage est un trop grand investissement de temps.

VII. Les certificats et leur signification

On distingue trois types de certificats:

- attestations de conformité
- certificats de qualité (certificats d'usine)
- attestations de calibrage (bureau allemand de vérification des poids et mesures, DKD)

Attestations de conformité

Conformité veut dire: conformité d'un appareil avec l'homologation pour le secteur régi par la loi selon les régulations allemandes sur l'étalonnage des poids et mesures (disposition 12). Les détails concernant le procédé d'attestation de conformité sont décrits dans la norme DIN 12 600.
Avec le signe de conformité "H", le fabricant (sur demande également le "Eichamt", le bureau allemand de vérification des poids et mesures avec signe de conformité propre) atteste que l'appareil correspondant répond aux exigences des régulations allemandes sur l'étalonnage et à celles des normes relatives au sujet.
En règle générale, le signe de conformité est directement imprimé sur les appareils et, en ce qui concerne les articles à usage unique complémentaires, sur l'emballage. (Dans ce cas une attestation de conformité par écrit n'est pas donnée.)

signe de conformité de BRAND

Certificats de qualité

L'assurance de qualité réalisée conformément à la norme DIN EN ISO 9001 constitue la base pour la délivrance d'attestations de calibrage d'usine – et les certificats de qualité sont de tels certificats. Ces certificats d'usine sont disponibles en tant que certificat de lot ou certificat individuel.
Tous les résultats de contrôle sont documentés et archivés pendant 7 ans au minimum; ainsi, si l'on connaît le numéro de lot ou bien le numéro de série, il est possible de recourir à chaque instant à des résultats individuels obtenus à partir de mesures effectuées au moment de la fabrication.

Certificat de lot

Tous les appareils de mesure et certificats d'un lot de fabrication portent le même numéro de lot. Le certificat indique, pour ce lot, la valeur moyenne, l'écart type et la date de délivrance.

Certificat individuel

L'appareil de mesure et le certificat portent, en plus du numéro de lot, un numéro de série individuel. Le certificat indique le volume mesuré, l'incertitude de mesure et la date de délivrance.

Attestations de calibrage

Attestation de calibrage officiel (certificat)

Cette attestation de calibrage est délivrée par le bureau allemand de vérification des poids et mesures et est reconnue en Allemagne et dans beaucoup d'autres pays.
L'appareil de mesure et l'attestation de calibrage portent un numéro de série individuel pour l'identification et l'année de délivrance.

Service de Calibrage Allemand

Le Deutscher Kalibrierdienst DKD (Service de Calibrage Allemand) fut fondé en 1977 comme institution commune de l'Etat et de l'économie, laquelle représente le lien entre les moyens de mesure des laboratoires de l'industrie, de la recherche, des instituts de contrôle, ainsi que des pouvoirs publics, et les étalons nationaux du Physikalisch-Technische Bundesanstalt PTB (Institut Fédéral de Physique et de Métrologie).

L'attestation de calibrage DKD avec le signe de calibrage DKD documente, en tant que certificat officiel de haut niveau, le rattachement des valeurs mesurées (traçabilité) à des étalons nationaux et internationaux et avec cela à des unités du SI, comme l'exigent, entre autres, les normes DIN EN ISO 9000, DIN EN 45000 et ISO/IEC 17025 pour la surveillance des moyens de contrôle.

Une différence déterminante entre les services de calibrage en usine et les laboratoires de calibrage accrédités par le PTB est dans l'indication fiable de l'incertitude de mesure respective, une indication qui est surveillée par le PTB et dont le laboratoire se porte garant.

On fait usage de l'attestation de calibrage DKD là où des calibrages d'un laboratoire accrédité sont exigés et où il est question de calibrages d'une extrême qualité, ainsi que de la mise à disposition d'étalons de référence et du calibrage d'appareils de référence.

Le DKD est membre de l'European Cooperation for Accreditation (EA). L'accord multilatéral assure la reconnaissance obligatoire de l'attestation de calibrage DKD dans de nombreux pays. Elle est délivrée en plusieurs langues.

VIII. La directive DIV

Importance et effets

Directive DIV de l'UE

La directive de l'UE relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (directive DIV) a été publiée le 7 décembre 1998 dans le Journal officiel des Communautés européennes et, avec cela, est entrée en vigueur. Elle est applicable depuis le 7 juin 2000.

Qu'est-ce qu'on entend par "dispositif médical de diagnostic in vitro (DIV)"?

On entend par "dispositif médical de diagnostic in vitro" tout dispositif médical utilisé dans l'examen in vitro d'échantillons provenant du corps humain, y compris les dons du sang et de tissus. A ces dispositifs appartiennent: des réactifs, des substances ou dispositifs de calibrage, des substances ou dispositifs de contrôle, équipements, instruments, appareils, systèmes, ou également des récipients pour échantillons s'ils sont spécifiquement destinés par le fabricant à être utilisés pour des échantillons médicaux.
Les "dispositifs médicaux de diagnostic in vitro" servent principalement à fournir des informations

- concernant un état physiologique ou pathologique
- concernant une anomalie congénitale ou
- permettant de contrôler des mesures thérapeutiques.

Qu'est-ce qu'on entend par "dispositif médical"?

On entend par "dispositif médical" tout instrument, appareil, équipement, matière ou autre article, y compris le logiciel, destinés par le fabricant à être utilisés chez l'homme

- à des fins de diagnostic, de prévention, de contrôle, de traitement, d'atténuation ou de compensation d'une maladie, d'une blessure ou d'un handicap, ou bien
- à des fins d'étude, de remplacement ou modification de l'anatomie ou d'un processus physiologique ou
- à des fins de maîtrise de la conception.

Les agents pharmacologiques ou immunologiques réglementés par la loi sur les médicaments n'appartiennent pas à ces dispositifs.

CE

Marquage

Avec l'apposition du marquage CE sur un produit, le fabricant atteste que ce produit répond aux exigences fixées dans les directives de l'UE pour les produits de ce genre et que celui-ci a été soumis, en tant que besoin, aux contrôles exigés. Le fabricant appose ce sigle sur le produit et établit en plus une attestation de conformité certifiant la concordance du produit avec les directives et normes citées.
BRAND fournit exclusivement des dispositifs médicaux de la gamme des dispositifs de diagnostic in vitro (DIV). A ces dispositifs appartiennent par exemple:

- pipettes à dilution de sang
- cellules de numération pour globules sanguins
- lamelles couvre-objets pour hématimètre
- pipettes capillaires à usage unique
- capillaires microhématocrites
- cire de cachet pour hématocrites
- pipette à sédimentation de sang
- pipettes de Sahli (détermination de glycémie)
- godets pour analyseur
- pots à urine
- pots pour coprologie

Echéancier de la directive DIV:

- Depuis le 7 juin 2000 la directive DIV est applicable au niveau national. A partir du 1 janvier 2002, selon toute prévision: introduction de la directive DIV dans la loi sur les dispositifs médicaux.
- Le 7 décembre 2003, donc après une période de cinq ans, se termine le régime transitoire pour l'application de la directive DIV. A partir de cette date, les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro mis sur le marché doivent porter le marquage CE.
- Jusqu'au 7 décembre 2005, donc pendant une période additionnelle de deux ans, il sera possible de mettre en service des dispositifs DIV étant déjà le 7 décembre 2003 sur le marché ou chez l'utilisateur et ne portant pas le marquage CE (7 décembre 2005: fin de la période de mise en service).

BRAND répond déjà en ce moment aux conditions fondamentales pour munir des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro du marquage CE sous sa propre responsabilité. L'apposition du marquage CE sur cette gamme de produits n'est pas encore permise, car les conditions légales ne sont pas établies à ce jour. Les prescriptions nationales pour l'apposition du marquage CE sur des produits n'existent que pour les dispositifs médicaux qui, cependant, ne se trouvent pas dans notre gamme de produits.

IX. L'assurance de qualité

L'assurance de qualité est indispensable et devrait, dans le cas idéal, commencer déjà avec la phase de projet d'un produit et accompagner son développement (jusqu'à ce que celui-ci soit prêt pour la fabrication en série) ainsi que la fabrication ultérieure. Ceci assure à l'utilisateur la plus grande sécurité possible lors du travail avec les appareils de laboratoire et la fiabilité de ses analyses.

Assurance de qualité chez BRAND

L'assurance de qualité BRAND commence déjà avec la phase de projet d'un produit et accompagne son développement jusqu'à ce que celui-ci soit prêt pour la fabrication en série.

Les contrôles permanents du procédé de fabrication sur toute sa longueur ont pour but de produire des appareils de volumétrie différant le moins possible de la valeur vraie (exactitude) et dont les valeurs individuelles (coefficient de variation) ont une plage de dispersion la plus réduite possible. Pour finir, le résultat de ce "Contrôle statistique de processus" (SPC) est contrôlé par un essai sur prélèvement selon la norme DIN ISO 3951 au cours du contrôle final.

Le procédé du système d'assurance de qualité réalisé chez BRAND et certifié selon la norme DIN EN ISO 9001 est une combinaison de surveillance de procédés et d'essais sur prélèvement. Le niveau de qualité acceptable (N.Q.A.) est de 0,4. Cela signifie que les valeurs limites données sont observées avec une certitude statistique de 99,6 %.

Tous les moyens de contrôle utilisés dans l'assurance de qualité sont contrôlés à intervalles réguliers et raccordés aux étalons nationaux du PTB (Institut Fédéral de Physique et de Métrologie).

Tous les résultats de contrôle sont documentés et archivés pendant 7 ans au minimum; ainsi, si l'on connaît le numéro de lot ou bien le numéro de série, il est possible de recourir à chaque instant à des résultats individuels obtenus à partir de mesures effectuées au moment de la fabrication.

De par le fait que BRAND est fabricant d'appareils de volumétrie attestés conformes, l'assurance de la qualité BRAND ainsi que la qualité de ses produits sont surveillées par le bureau allemand de vérification des poids et mesures.

Le rattachement (traçabilité) des valeurs mesurées aux unités nationales et aux unités internationales du SI, comme l'exigent les normes DIN EN ISO 9000, DIN EN 45000 et ISO/IEC 17025 pour la surveillance des moyens de contrôle, est assuré par raccordement aux étalons du PTB (Institut Fédéral de Physique et de Métrologie).

Ainsi, toutes les exigences sont satisfaites en ce qui concerne et la surveillance des moyens de contrôle avec traçabilité par raccordement à l'étalon national et à la qualification du personnel.

X. Le nettoyage des appareils de laboratoire

L'utilisation d'appareils de volumétrie propres et exempts de graisse est une condition essentielle pour obtenir l'exactitude de volume indiquée, ceci ayant une grande influence sur l'exactitude des résultats d'analyse. Il faut choisir le procédé de nettoyage pour les appareils Liquid Handling (par ex. stérilisation à la vapeur) selon le type et l'utilisation de l'appareil. Vous trouverez des instructions recommandées pour le nettoyage dans le mode d'emploi correspondant. Les informations suivantes sont valables également pour la volumétrie en verre comme en matières plastiques.

Nettoyage à la main et en machine

Les appareils de laboratoire en verre ou matière plastique peuvent être nettoyés à la main dans un bain, selon la méthode de trempage, ou en machine à laver de laboratoire. On devrait nettoyer les appareils de laboratoire juste après leur emploi, à température basse, pendant une courte durée et avec un produit légèrement alcalin. Les appareils de laboratoire ayant eu contact avec des substances infectieuses seront tout d'abord nettoyés avant, le cas échéant, d'être stérilisés à la vapeur.
Ce n'est que de cette façon que l'on peut empêcher un collage des souillures et une détérioration des appareils pouvant être causée par des restes de produits chimiques.

Remarque:
Les appareils de laboratoire utilisés doivent être désinfectés avant nettoyage du fait de la possibilité d'accident.

Méthode d'essuyage

Le procédé le plus connu est la méthode d'essuyage. On essuie ou frotte les ustensiles souillés avec un chiffon ou une éponge imbibés d'une solution détergente. Les appareils de laboratoire ne doivent jamais être traités avec des produits ou éponges abrasifs, qui pourraient abîmer leur surface.

Méthode de trempage

Pour le nettoyage à la main selon la méthode de trempage, on plonge généralement les appareils de laboratoire dans une solution détergente pendant 20 à 30 minutes à température ambiante. Puis on les rince avec de l'eau de ville et ensuite avec de l'eau distillée. N'augmenter le temps d'immersion et la température que dans le cas de souillures tenaces!

Bain à ultrasons

Les bains à ultrasons peuvent être utilisés aussi bien pour nettoyer les appareils en verre que pour ceux en matière plastique. Il faut cependant éviter tout contact direct avec la membrane.

Appareils de laboratoire en verre

Pour des appareils en verre, les temps d'immersion prolongés au-dessus de 70 °C sont à éviter dans des milieux alcalins. Autrement, ceci pourrait modifier les volumes par dégagement de verre ou détruire les graduations.

Appareils de laboratoire en matière plastique

Les appareils en matière plastique ont généralement des surfaces lisses et non mouillables, ce qui permet, en règle générale, de les nettoyer facilement avec un produit légèrement alcalin. Les appareils de laboratoire en polystyrène et polycarbonate, particulièrement les tubes à centrifuger, ne doivent être nettoyés qu'à la main et avec des détergents neutres. Un temps d'immersion prolongé influence la solidité, même s'il s'agit de détergents légèrement alcalins. La résistance chimique des matières plastiques utilisées est à vérifier pour chaque cas individuel.

Nettoyage en machine

Le nettoyage dans des machines à laver de laboratoire ménage les appareils de laboratoire bien plus que le nettoyage selon la méthode de trempage. Les appareils ne sont en contact avec la solution détergente que lors des phases relativement courtes pendant lesquelles celle-ci est pompée par des gicleurs ou des tubes injecteurs sur la surface à nettoyer.

- Les appareils de laboratoire légers doivent être protégés par des filets afin de ne pas être projetés et abîmés par le jet de lavage.
- Les appareils de laboratoire sont mieux protégés des détériorations de leur surface quand les paniers de la machine à laver sont revêtus de matière plastique.

Nettoyage dans les analyses de traces

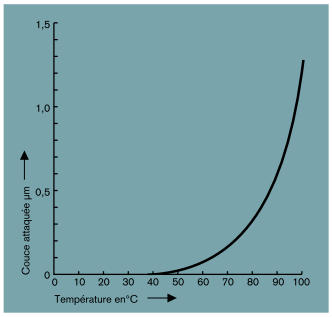
Pour minimiser les traces de métal, on trempe les appareils de laboratoire dans de l'acide chlorhydrique 1N. Dans le cas d'exigences extrêmes, on fait bouillir les appareils en verre par la suite dans de l'acide nitrique 1N pendant 1 h env., pour les appareils de laboratoire en matière plastique il faut travailler à température ambiante. Le temps d'immersion maximum ne doit pas dépasser 6 heures.

- L'acide nitrique est un oxydant fort et provoque la fragilisation de nombreuses matières plastiques.

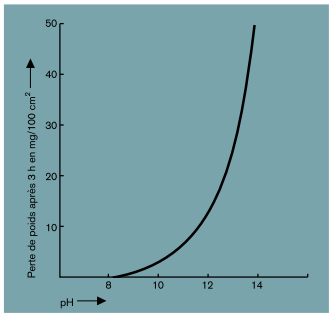
Les appareils doivent ensuite être soigneusement rincés avec de l'eau distillée. Afin de minimiser les traces organiques, les appareils de laboratoire sont nettoyés avec des lessives ou des solvants, comme l'alcool. Ensuite, on les trempe dans de l'acide chlorhydrique 1N, puis on les rince soigneusement avec de l'eau distillée.

Nettoyage non agressif

Afin de ménager les appareils de laboratoire, on devrait les nettoyer juste après leur emploi, à température basse, pour une courte durée et avec un produit légèrement alcalin. Les temps d'immersion prolongés au-dessus de 70 °C sont à éviter dans des milieux alcalins, tout particulièrement pour les appareils de volumétrie en verre. Autrement, ceci pourrait modifier les volumes par dégagement de verre ou détruire les graduations.



Attaque de lessive sur le verre DURAN® en fonction de la température, calculée à partir des pertes de poids.
c (NaOH) = 1 mol/l
Durée d'attaque: 1h.



Attaque de lessive sur le verre DURAN® en fonction du pH à 100 °C.
Durée d'attaque: 3h.

(Diagrammes de la brochure "Technische Gläser" de SCHOTT Glaswerke, Mayence)

Information

Tandis qu'une lessive caustique 1N dégage une couche de seulement env. 0,14 µm d'une surface en DURAN® (verre borosilicaté 3.3) en 1 heure à 70 °C, elle en dégagera env. 1,4 µm à 100 °C, soit donc le décuple. Pour cette raison, éviter les températures de nettoyage au-dessus de 70 °C et préférer une alcalinité réduite.

Désinfection et stérilisation

Désinfection

Les appareils de laboratoire ayant eu contact avec du matériel infectieux doivent être désinfectés avant tout autre usage, entre autres pour protéger l'utilisateur. Les microorganismes peuvent être détruits par nettoyage manuelle avec des détergents désinfectants, par nettoyage en machine par des procédés physico-thermiques (10 min. d'attente à 93 °C selon le Bureau fédéral allemand de la Santé BGA) ou bien par des procédés chimicothermiques. Si besoin est, et si le maté-riau est approprié, les ap-pareils pourront être stérilisés par la suite à la vapeur.

Stérilisation à la vapeur

Stérilisation à la vapeur signifie "l'extinction ou l'inactivation irréversible de tous les microorganismes susceptibles à se multiplier" (DIN 58 900-1, 1986) sous l'action de "vapeur d'eau saturée d'au moins 120 °C" (DIN 58 946-1, 1987). Le temps d'action minimum suivant (temps d'extinction + supplément de sécurité) est indiqué dans la norme DIN 58 946-2 pour une température de stérilisation de 121 °C: t_e = 20 minutes.

L'exécution conforme de la stérilisation, et ce jusqu'à la sécurité biologique (DIN 58 946-3) fait partie de la responsabilité de la personne chargée du secteur d'hygiène.

Recommandations

- Une stérilisation efficace à la vapeur n'a vraiment lieu que si la vapeur est saturée et qu'elle peut atteindre tous les endroits contaminés sans empêchement.
- Les récipients doivent toujours être ouverts afin d'éviter toute surpression.
- Les appareils de laboratoire réutilisables souillés doivent être soigneusement nettoyés avant de procéder à la stérilisation à la vapeur. Si l'on opérait dans le sens inverse, les résidus seraient cuits et collés pendant la stérilisation à la vapeur. Les microorganismes –protégés par ces souillures- ne seraient pas tués de façon efficace; de plus, les produits chimiques collant encore aux parois pourraient abîmer les surfaces des appareils sous l'effet des températures élevées.
- Les matières plastiques ne résistent pas toutes à la stérilisation à la vapeur. Le polycarbonate par ex. perd sa solidité, raison pour laquelle les tubes à centrifuger de ce matériau ne doivent pas être stérilisés à la vapeur.

Résistance à la chaleur

Tous les appareils de volumétrie réutilisable BLAUBRAND® et SILBERBRAND peuvent subir une température allant jusqu'à 180 °C sans risque que leur volume soit ensuite modifié. Il faut toutefois faire attention au fait que le chauffage irrégulier des appareils en verre ou les chocs thermiques brusques provoquent des contraintes thermiques qui peuvent causer leur casse. Donc:

- Ne placer les appareils en verre dans les étuves de séchage ou de stérilisation que lorsque ces dernières sont à froid, puis les chauffer.
- Une fois le temps de séchage ou de stérilisation révolu, laisser les appareils se refroidir lentement dans l'étuve éteinte.
- Ne jamais chauffer des appareils de volumétrie sur plaques chauffantes!
- Observer la température maximum d'utilisation particulièrement pour les appareils en matière plastique.

XI. Conseils concernant la sécurité

Sur la manipulation de substances dangereuses

La manipulation de substances dangereuses, comme les produits chimiques, les matériels infectieux, toxiques ou radioactifs, demande une grande responsabilité de la part de tous pour la protection de l'homme et de l'environnement. Les règlements correspondants doivent strictement être suivis: par ex. les "Directives pour Laboratoires" distribuées par les Caisses de Prévoyance et par les bureaux chargés de la protection de l'environnement, de la radioprotection et de l'élimination des déchets; également respecter les règles techniques généralement admises, comme par ex. les normes DIN ou ISO.

Conseils importants concernant la sécurité

- Avant d'utiliser un appareil de laboratoire, l'utilisateur doit vérifier que celui-ci est bien approprié pour son application, et doit en contrôler le bon fonctionnement.
- Avant une réutilisation, contrôler si l'appareil à été endommagé. Cette mesure est particulièrement importante pour les appareils fonctionnant sous vide ou sous pression (par ex. dessicateurs, flacons à vide, ou autres).
- Un appareil de laboratoire défectueux représente un danger à ne pas sous-estimer (coupures, par ex., brûlures par acide ou risque d'infection). Au cas où une réparation conforme aux règles ne serait pas rentable ou serait impossible, il faudra l'éliminer correctement.
- Tout appareil retourné en vue de réparation doit être nettoyé parfaitement et éventuellement stérilisé selon les prescriptions. Les appareils contaminés radioactivement doivent être décontaminés selon les prescriptions du bureau de radioprotection!

  Les appareils de volumétrie en verre endommagés, comme les fioles jaugées, les éprouvettes graduées etc. ne devraient pas être réparés. L'action de la chaleur pourrait provoquer des contraintes dans le verre (risque de casse très élevé!), ou bien modifier le volume de façon permanente.

  Il est également dangereux de simplement couper une éprouvette graduée lorsqu'elle est défectueux. Ceci à pour effet de raccourcir la distance entre le trait supérieur et le bec verseur, distance définie par la norme DIN. Le danger de renverser des liquides chimiques en remplissant l'éprouvette s'en trouve augmenté, et la sécurité de travail n'est plus garantie.
- Les déchets doivent être éliminés selon les lois existantes. Ceci est également valable pour les articles à usage unique usagés. Ils ne doivent pas présenter un danger pour l'homme ou l'environnement.
- En raison de leur composition particulière, les verres techniques sont à éliminer après avoir été nettoyés, en respectant les prescriptions en vigueur.

9946 51 · Printed in Germany · 0502

BRAND GMBH + CO KG · Fabricants de Matériel de Laboratoire · Postfach 1155
97861 Wertheim · Allemagne · Tel.: +49 9342 808-0 · Fax: +49 9342 808-236
E-Mail: info@brand.de · Internet: www.brand.de

4 033378 334619

BRAND